

**Universidade Federal de Santa Catarina
Centro de Ciências Físicas e Matemáticas
Departamento de Química
Programa de Pós-graduação em Química**

**Desenvolvimento de metodologias analíticas baseadas em
sistemas de pré-concentração empregando extração em fase
sólida e microextração com gota única para determinação de
metais-traço em amostras aquosas ambientais**

Heloisa França Maltez

Orientador: Dr. Eduardo Carasek da Rocha

Co-orientador: Dr. Adilson José Curtius

Trabalho apresentado como parte dos requisitos
para a obtenção do título de Doutor em Química,
no Programa de Pós-graduação em Química na
Universidade Federal de Santa Catarina,
Florianópolis, Santa Catarina, Brasil.

Florianópolis, fevereiro de 2007.

APROVAÇÃO

Nome: Heloisa França Maltez

Título da Tese: Desenvolvimento de metodologias analíticas baseadas em sistemas de pré-concentração empregando extração em fase sólida e microextração com gota única para determinação de metais-traço em amostras aquosas ambientais.

Esta tese foi julgada e aprovada para a obtenção do título de Doutor em Química no Programa de Pós-graduação em Química da Universidade Federal de Santa Catarina.

Florianópolis, 8 de fevereiro de 2007.

Dr. Ademir Neves
Coordenador do Programa de Pós-graduação em Química

Banca Examinadora:

Prof. Dr. Eduardo Carasek da Rocha
(Orientador - UFSC)

Prof. Dr. Adilson José Curtius
(Co-orientador - UFSC)

Prof. Dr. Reinaldo Calixto de Campos
(PUC - Rio de Janeiro)

Prof. Dra. Márcia A. Mesquita Silva da Veiga
(USP – Ribeirão Preto)

Prof. Dra. Vera Lúcia.A. F. Bascuñan
(UFSC)

Prof. Dr. Dilson Roque Zanette
(UFSC)

Prof. Dr. Ivan Gonçalves de Souza
(UFSC)

Resumo

Este trabalho descreve o desenvolvimento de metodologias analíticas para a determinação de metais traço em matrizes ambientais. A pré-concentração foi realizada usando extração em fase sólida e microextração com gota única. A espectrometria de massa com plasma indutivamente acoplado e a espectrometria por absorção atômica (AAS) foram utilizadas como forma de detecção. Para a análise de diferentes amostras de água e determinação simultânea de Cd, Cu, Ni, V, Zn, Co e Pb foi desenvolvido um sistema de pré-concentração simultânea em linha com detecção por espectrometria de massa com plasma indutivamente acoplado. O sistema é baseado na retenção catiônica dos analitos em mini-colunas preenchidas com sílica-gel modificada com óxido de nióbio (V) ($\text{Nb}_2\text{O}_5\text{-SiO}_2$). Variáveis químicas e de fluxo foram otimizadas pelo método univariado. As condições otimizadas foram selecionadas com o compromisso entre a sensibilidade para todos os analitos e a velocidade analítica. O limite de detecção ($3s/\sigma$) foi de $0,01 \mu\text{g L}^{-1}$ a $0,03 \mu\text{g L}^{-1}$. As recuperações para as amostras de água coletadas no município de Florianópolis - Brasil foram de 91 a 112 %. Foram propostos também mais dois procedimentos usando o $\text{Nb}_2\text{O}_5\text{-SiO}_2$ como sorvente em um sistema em linha e detecção por espectrometria de absorção atômica em chama. Neste caso, ambos os procedimentos foram otimizados pelo método multivariado usando planejamento fatorial completo em dois níveis e matriz Doehlert. Um dos procedimentos visou a especiação de cromo em amostras de água. Para sua otimização estudou-se a sorção do Cr(III), pois o sorvente $\text{Nb}_2\text{O}_5\text{-SiO}_2$ é um trocador catiônico e não adsorve as espécies aniônicas do Cr(VI). Assim, um procedimento de redução do Cr(VI) foi otimizado usando matriz Doehlert. Os parâmetros analíticos de mérito foram obtidos com as condições otimizadas do sistema. O limite de detecção foi de $0,3 \mu\text{g L}^{-1}$. A concentração de Cr(VI) nas amostras foi calculada pela diferença entre a concentração de Cr total na amostra (amostra submetida ao procedimento de redução, seguido do procedimento de pré-concentração) e a concentração de Cr(III) (amostra

submetida apenas ao processo de pré-concentração). Os testes de recuperação aplicados nas amostras ambientais foram de 90 e 105%. O outro procedimento usando o sorvente $\text{Nb}_2\text{O}_5\text{-SiO}_2$ foi desenvolvido para a determinação de chumbo em amostras ambientais. Os parâmetros do sistema em linha foram otimizados, e então a presença de íons concomitantes foi avaliada usando planejamento fatorial fracionário para verificar possíveis interferências na adsorção do Pb. Os parâmetros analíticos de mérito foram obtidos. O limite de detecção e a precisão (avaliados com desvio padrão relativo) foram de $0,4 \mu\text{g L}^{-1}$ e 1,6% ($n = 7$, $100 \mu\text{g L}^{-1}$ de Pb), respectivamente. Os testes de recuperação para as diferentes amostras ambientais levaram a recuperações entre 90 e 104%. Por fim, um simples e rápido procedimento para extração e pré-concentração de chumbo em amostras ambientais usando microextração com gota única (SDME) e detecção por AAS em forno de grafite foi proposto. O método é baseado na extração do complexo Pb(II)-o,o dietilditiofostato da solução aquosa pelo clorofórmio (solvente extrator). As condições experimentais foram otimizadas pelo método univariado. Usando as condições experimentais otimizadas, o limite de detecção foi de $0,3 \mu\text{g L}^{-1}$. O método foi aplicado para a determinação de chumbo em cinco diferentes materiais de referência certificada e os valores encontrados foram concordantes com os valores certificados.

Abstract

This work describes the development of analytical methodologies for determination of trace level elements in environmental matrices. The pre-concentration was performed by solid phase extraction and single-drop microextraction. Inductively coupled plasma mass spectrometry and atomic absorption spectrometry were used as means of detection. For the analysis of different water samples and simultaneous determination of Cd, Cu, Ni, Zn, Co and Pb, an on-line pre-concentration system with detection by inductively coupled plasma mass spectrometry was developed. The system is based on cationic retention of the analytes onto a minicolumn filled with silica gel chemically modified with niobium oxide (V) ($\text{Nb}_2\text{O}_5\text{-SiO}_2$). Chemical and flow variables were optimized by a univariate approach. The optimized conditions were selected taking into account a compromise between sensitivity for all target analytes and sample throughput. The detection limits ($3s/\sigma$) ranged from $0.01\mu\text{g L}^{-1}$ to $0.03\mu\text{g L}^{-1}$. The recoveries for water samples collected in the city of Florianópolis – Brazil ranged from 91 to 112 %. Other two procedures using $\text{Nb}_2\text{O}_5\text{-SiO}_2$ as sorbent in an on-line system were developed with detection by flame atomic absorption spectrometry. In this case, both methods were optimized by a multivariate approach through an experimental design based on a two-level full factorial design and surface response methodology through Doehlert matrix. One procedure dealt with chromium speciation in water samples. All procedure was optimized for Cr(III) sorption, because the sorbent $\text{Nb}_2\text{O}_5\text{-SiO}_2$ is a cationic exchanger and does not adsorb the anionic species of Cr(VI). Thus, a reduction procedure of Cr(VI) to Cr(III) was optimized by a Doehlert matrix. The analytical features of merit for the methodology were obtained for all the optimized conditions. The detection limit was $0.3\mu\text{g L}^{-1}$. The concentration of Cr(VI) in the samples was calculated by the difference between total chromium in the sample (sample submitted to the reduction procedure, followed by pre-concentration procedure) and the concentration of Cr(III) (sample submitted only to the pre-concentration procedure). The recovery tests were

performed for the environmental samples, resulting in 90 to 105 % recovery. The other procedure using the sorbent $\text{Nb}_2\text{O}_5\text{-SiO}_2$ was developed for Pb determination in environmental samples. The parameters of the on-line system were optimized, and the presence of foreign ions was evaluated using a two-level fractional factorial experimental design to check likely interfering ions on the adsorption of Pb. The analytical parameters of merit were obtained. The detection limit and the precision were $0.4 \mu\text{g L}^{-1}$ and 1.6% ($n = 7$, $100 \mu\text{g Pb L}^{-1}$), respectively. Recovery tests for different environmental samples resulted in 90 to 104%. Finally, a simple and fast procedure for extraction and pre-concentration of Pb in environmental samples using single-drop microextraction (SDME) and detection by graphite furnace atomic absorption spectrometry was proposed. The method is based on extraction of the Pb(II)-o,o diethyldithiophosphate complex from aqueous sample solution by trichloromethane (extracting solvent). The experimental conditions for the best analyte recovery were optimized by an univariate approach. Using the experimental optimized conditions, the detection limit was estimated in $0.3 \mu\text{g L}^{-1}$. The method was applied for Pb determination in five certified reference materials, and the values found were in good agreement with the certified concentration.

Aos meus pais, irmãos e sobrinhos pelo
amor e incentivo que sempre me deram.
Ao Juninho, por todo amor e carinho.

Agradecimentos

Ao professor Eduardo Carasek pela amizade, dedicação e orientação para a execução deste trabalho.

Ao professor Adilson J. Curtius pela co-orientação e por disponibilizar toda a estrutura do laboratório para que pudesse ser realizada parte deste trabalho.

Aos professores membros da banca examinadora por sua participação e colaboração.

Aos colegas do laboratório 209 Dilma, Edmar, Janaína, Rose, Eliane, Vanira, Kalya, Jéferson e Joyce pelo companheirismo, amizade, e por formarmos um grupo tão unido e enfrentarmos juntas as dificuldades encontradas no caminho.

Agradeço em especial a Kalya e ao Edmar pela participação direta na execução de parte do trabalho.

Aos colegas do laboratório 207 pela receptividade demonstrada, em especial ao Daniel, a Mariana e ao Anderson pelos trabalhos realizados em conjunto.

Aos amigos da secretaria, Graça e Jadir, por estarem sempre tão dedicados e dispostos a ajudar.

Ao meu companheiro Júnior, pelo seu carinho, por todas as alegrias, e por estar ao meu lado nos momentos de aflição e incertezas.

Aos meus pais Elena e Milton, meus irmão Beth, Marcelo e Marcel, meus sobrinhos Lucas e Letícia, por serem a melhor família do mundo, e por tanto amor e dedicação, amo todos vocês.

À Yara, Eduardo, Álvaro e Bel pelo apoio e carinho.

A todos meus amigos pelo apoio recebido durante estes anos.

Aos professores e funcionários do Departamento de Química que de alguma forma contribuíram para minha formação.

Ao CNPq pelo suporte financeiro.

Agradeço a todos que de alguma forma contribuíram para a realização deste trabalho, pois é praticamente impossível desenvolver um trabalho durante quatro anos sem precisar da ajuda de ninguém, seja na parte prática ou na parte emocional, sempre contamos com alguém para nos apoiar. Obrigada a todos do fundo do meu coração.

Apresentação

Este trabalho apresenta-se dividido em cinco capítulos que serão descritos a seguir:

O primeiro capítulo (Introdução) inicia com uma breve introdução sobre a problemática do aumento da poluição ambiental, bem como as limitações instrumentais para o monitoramento dos contaminantes em amostras ambientais.

O segundo capítulo (Revisão Bibliográfica) apresenta uma breve descrição das características dos metais que foram determinados pelas diferentes metodologias propostas neste trabalho. Neste capítulo também são apresentados o funcionamento e as características da instrumentação utilizada (espectrometria de massa com plasma indutivamente acoplado e espectrometria de absorção atômica). Também neste capítulo são apresentados conceitos de métodos de preparação de amostras (com ênfase na extração em fase sólida e na micro-extração líquido-líquido), sistema de análise por injeção em fluxo, otimização univariada e multivariada.

Os objetivos do trabalho estão descritos no terceiro capítulo

O quarto capítulo (parte experimental) descreve os equipamentos e reagentes utilizados, os procedimentos de otimização e demais parâmetros instrumentais para cada uma das metodologias desenvolvidas.

Os resultados e as discussões dos dados obtidos estão divididos por metodologia desenvolvida e apresentados no capítulo cinco. Assim, neste capítulo, os principais resultados das otimizações, parâmetros analíticos de mérito e análise de amostras (ambientais e materiais de referência certificados) para cada metodologia proposta são apresentados. Além disto, neste capítulo é apresentada uma comparação entre os resultados mais relevantes de cada metodologia desenvolvida.

O sexto capítulo (Conclusões) apresenta as considerações finais a respeito das metodologias desenvolvidas.

Por fim, é apresentado o anexo I que descreve os trabalhos publicados e artigos submetidos .

Sumário	
Aprovação	i
Resumo	ii
Abstract	iv
Apresentação	ix
Sumário	xi
Lista de Figuras	xiv
Lista de Tabelas	xviii
Lista de Abreviaturas	xx

Capítulo 1

Introdução	1
-------------------	----------

Capítulo 2

Revisão Bibliográfica	3
2.1 Aspectos relevantes sobre os metais	3
2.1.1 Especiação	8
2.2 Métodos de pré-concentração e extração.....	10
2.2.1 Extração com micro-gota (SDME).....	11
2.2.2 Extração em Fase Sólida	14
2.2.3 Comparação entre os métodos de LLE, SPE e SDME	22
2.3 Análise por injeção em fluxo	23
2.4 Métodos de otimização de parâmetros experimentais.....	24
2.4.1 Planejamento fatorial.....	25
2.4.2 Planejamento Doehlert.....	27

Capítulo 3

Objetivo	29
3.1 Objetivos Específicos.....	29

Capítulo 4

Parte Experimental	31
4.1 Procedimento de limpeza dos aparatos.....	32
4.2 Reagentes.....	33
4.3 Preparação do material sorvente	34
4.4 Instrumentação	35
4.4.1 Espectrometria de massa com plasma indutivamente acoplado	35
4.4.2 Espectrometria de absorção atômica em chama	40
4.4.3 Espectrometria de absorção atômica em forno de grafite.....	44

Capítulo 5

Resultados e discussão	49
5.1 Uso de sílica gel modificada com óxido de nióbio(V) em um sistema em linha para pré-concentração simultânea de cádmio, cobre, níquel, vanádio, zinco, cobalto e chumbo com detecção por ICP-MS.	49
5.1.1 A influência do pH da amostra	50
5.1.2 O efeito da concentração do eluente.....	51
5.1.3 O efeito da vazão da amostra	52
5.1.4 Tempo de pré-concentração e tempo de limpeza	53
5.1.5 Estudo da saturação da coluna	54
5.1.6 Parâmetros analíticos de mérito.....	55
5.1.7 Aplicação	56
5.2 Uso de planejamento multivariado para otimização do sistema de pré-concentração e especiação de cromo com detecção por F AAS.	60
5.2.1 Planejamento fatorial completo	60
5.2.2 Otimização usando planejamento Doehlert.....	63
5.2.3 Otimização da redução do Cr(VI) usando planejamento Doehlert.....	66
5.2.4 Estudo do tempo de pré-concentração	69
5.2.5 Parâmetros analíticos de mérito.....	70
5.2.6 Aplicação do procedimento de especiação proposto	70

5.3	Uso de sílica gel modificada com óxido de nióbio (V) em um sistema em linha para pré-concentração de chumbo com otimização multivariada e detecção por F AAS.	73
5.3.1	Planejamento fatorial completo	73
5.3.2	Otimização usando planejamento Doehlert.....	74
5.3.3	Estudo do efeito de íons concomitantes no procedimento proposto	74
5.3.4	Estudo do volume de amostra	74
5.3.5	Parâmetros analíticos de mérito	74
5.3.6	Análises de amostras ambientais e de materiais de referência certificados ..	74
5.4	Uso de microextração com gota única para determinação de Pb(II) por GF AAS.	74
5.4.1	Curvas de pirólise e atomização	74
5.4.2	Efeito da concentração do DDTP	74
5.4.3	Estudo do volume da micro-gota e agitação da amostra	74
5.4.4	Estudo do tempo de extração.....	74
5.4.5	Efeito da força iônica	74
5.4.6	Parâmetros analíticos de mérito.....	74
5.5	Comparação dos resultados obtidos pelas diferentes metodologias desenvolvidas para a determinação de chumbo.....	74
Capítulo 6		
Conclusão		74
Referências Bibliográficas		74
Anexo I		74
Publicações.....		74

Lista de Figuras

Figura 2.1 Desenho esquemático demonstrando os modos de extração em SDME: (a) extração direta, (b) extração no <i>headspace</i>	12
Figura 2.2. Etapas de Amostragem em SPME. (1) agulha perfura o septo do frasco amostrador, (2) a gota é exposta diretamente na matriz da amostra e os analitos são sorvidos, (3) a gota é retraída para dentro da seringa e o extrato é injetado no GF AAS.....	13
Figura 2.3 Diagrama esquemático de uma mini-coluna típica onde: T é o tubo de Tygon e P é o tubo de politetrafluoretileno (PTFE) usados como conexões, S é o material sorvente, F é o filtro (lã de vidro).....	15
Figura 2.4 Comparação entre as etapas empregadas em LLE, SPE e SDME no desenvolvimento de metodologias analíticas (adaptado [78]).	22
Figura 4.1 Fluxograma indicando as metodologias desenvolvidas neste trabalho, separadas de acordo com a técnica analítica utilizada.....	32
Figura 4.2 Diagrama do sistema em linha. (A= água; Am= amostra; D = descarte; E= eluente; N = nebulizador; 1= posição de pré-concentração; 2= posição de eluição)	37
Figura 4.3 Desenho esquemático do dispositivo usado para coletar as amostras de água dos piezômetros.....	39
Figura 4.4 Sistema de pré-concentração em linha. (A): etapa de préconcentração e (B): etapa de eluição. L: via aberta, D: via fechada, V: válvula, MC: mini-coluna contendo o adsorvente, BP1 e BP2: bombas peristáltica, R:retorno do fluxo da amostra ou eluente. Círculo branco: válvula desativada e círculo cinza: válvula ativada.	42
Figura 4.5 Desenho esquemático ilustrando o sistema de microextração com gota única.	47
Figura 5.1 O efeito do pH da solução no comportamento da adsorção simultânea de $3,0 \mu\text{g L}^{-1}$ de Cd, Cu, Ni, V, Co, Zn e Pb em 100 mg de $\text{Nb}_2\text{O}_5\text{-SiO}_2$ (tempo de pré-concentração 1 min; eluição com HNO_3 $0,5 \text{ mol L}^{-1}$; vazão da amostra $6,0 \text{ mL min}^{-1}$; vazão do eluente $2,0 \text{ mL min}^{-1}$).	50
Figura 5.2 O efeito da concentração do eluente na dessorção simultânea de $3,0 \mu\text{g L}^{-1}$ de Cd, Cu, Ni, V, Co e Pb em 100 mg de $\text{Nb}_2\text{O}_5\text{-SiO}_2$ (tempo de	

pré-concentração 1 min; pH da amostra 7; vazão da amostra 6,0 mL min ⁻¹ ; vazão do eluente 2,0 mL min ⁻¹).....	51
Figura 5.3 Estudo da vazão da amostra na adsorção simultânea de 3,0 µg L ⁻¹ de Cd, Cu, Ni, V, Co, Zn e Pb em 100 mg de Nb ₂ O ₅ -SiO ₂ (volume de amostra 6,0 mL; pH da amostra 7; eluente HNO ₃ 2,5 mol L ⁻¹).	52
Figura 5.4 Formato dos picos dos analitos obtidos para a vazão da amostra de 6,0 mL min ⁻¹	53
Figura 5.5 Estudo do tempo de pré-concentração na adsorção simultânea de 3,0 µg L ⁻¹ de Cd, Cu, Ni, V, Co, Zn e Pb em 100 mg de Nb ₂ O ₅ -SiO ₂ (vazão da amostra 6,0 mL min ⁻¹ ; pH da amostra 7; eluente HNO ₃ 2,5 mol L ⁻¹).	54
Figura 5.6 Gráfico de Pareto dos efeitos padronizados para as variáveis do sistema de pré-concentração de Cr(III), usando eficiência de sensibilidade como resposta.....	63
Figura 5.7 Superfície de resposta. (volume de amostra foi 15,0 mL contendo 100 µg L ⁻¹ de Cr(III), concentração do eluente de 2,0 mol L ⁻¹ , vazão do eluente de 4,5 mL min ⁻¹ , massa de sorvente foi de 100 mg).	65
Figura 5.8 Superfície de contorno obtida na otimização final da vazão da amostra e pH da amostra.....	66
Figura 5.9 Superfície de resposta. (condições para pré-concentração: volume de amostra foi de 15,0 mL contendo 100 µg L ⁻¹ de Cr(VI); concentração do eluente de 2,0 mol L ⁻¹ ; vazão do eluente de 4,5 mL min ⁻¹ ; vazão da amostra 6,6 mL min ⁻¹ ; pH de 8,0; massa de sorvente foi de 100 mg).	68
Figura 5.10 Efeito do tempo de pré-concentração na intensidade do sinal para o Cr. (Condições para pré-concentração: concentração de 30 µg L ⁻¹ de Cr(III); concentração do eluente de 2,0 mol L ⁻¹ ; vazão do eluente de 4,5 mL min ⁻¹ ; vazão da amostra 6,6 mL min ⁻¹ ; pH de 8,0; massa de sorvente foi de 100 mg).	69
Figura 5.11 Gráfico de Pareto dos efeitos padronizados para as variáveis do sistema de pré-concentração de Pb(II), usando absorvância integrada como resposta.....	74
Figura 5.12 Superfície de resposta. (condições para pré-concentração: volume de amostra foi de 15,0 mL contendo 100 µg L ⁻¹ de Pb(II) em pH 7;	

- tampão citrato de sódio; concentração do eluente de $0,5 \text{ mol L}^{-1}$; massa de sorvente foi de 100 mg)..... 74
- Figura 5.13** Superfície de contorno obtida na otimização final da vazão da amostra e vazão do eluente..... 74
- Figura 5.14** Gráfico de Pareto dos efeitos padronizados para o estudo dos íons interferentes no sistema de pré-concentração de chumbo, usando absorvância integrada como resposta.(Condições: pH da amostra, volume de amostra 15 mL; concentração de Pb de $100 \mu\text{g L}^{-1}$; $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ de HNO_3 como eluente; vazão da amostra de $5,0 \text{ mL min}^{-1}$ e vazão do eluente de $5,5 \text{ mL min}^{-1}$) 74
- Figura 5.15** Gráfico do estudo do volume da amostra. (Condições usadas: pH = 7,0; massa do analito = $1,0 \mu\text{g}$; tampão = citrato de sódio; vazão da amostra = $5,1 \text{ mL min}^{-1}$; vazão do eluente = $5,3 \text{ mL min}^{-1}$; concentração do eluente = $0,5 \text{ mol L}^{-1}$)..... 74
- Figura 5.16** Curvas de pirólise e atomização para o Pb usando $400 \mu\text{g}$ de W como modificador permanente. Temperatura para de atomização para a curva de pirólise 1700°C . Temperatura para de pirólise para a curva atomização de 700°C . Pb foi extraído como um complexo de DDTP em CHCl_3 após LLE convencional (Condições: $25,0 \mu\text{g L}^{-1}$ de Pb; 0,1 % (m/v) de DDTP; 0,1% (v/v) HNO_3 , volume injetado $5,0 \mu\text{L}$). 74
- Figura 5.17** Efeito da concentração do DDTP no sinal analítico para o Pb usando SDME-GF AAS. Condições: volume de 2,0 mL de solução aquosa contendo $25,0 \mu\text{g L}^{-1}$ de Pb(II) em HNO_3 0,1 % (v/v); tempo de extração 5 min; volume da gota extratora $3,0 \mu\text{L}$; modificador permanente $400 \mu\text{g}$ de W. 74
- Figura 5.18** Efeito de íons concomitantes na intensidade do sinal para o Pb usando SDME-GF AAS. Condições: volume de 2,0 mL de solução aquosa contendo $25,0 \mu\text{g L}^{-1}$ de Pb(II) em HNO_3 0,1 % (v/v); tempo de extração 5 min; volume da gota extratora $3,0 \mu\text{L}$; modificador permanente $400 \mu\text{g}$ de W. 74
- Figura 5.19** Efeito do volume da gota extratora na intensidade do sinal para o Pb (II). Condições: Volume de amostra 2,0 mL; $3,0 \mu\text{g L}^{-1}$ de Pb(II) em

	HNO ₃ 0,1 % (v/v); DDTP 0,01 % (m/v); tempo de extração 5 min; modificador permanente 400 µg de W.....	74
Figura 5.20	Efeito do tempo de extração na intensidade do sinal para o Pb. Condições: Volume de amostra 2,0 mL; 25,0 µg L ⁻¹ de Pb(II) em HNO ₃ 0,1 % (v/v); DDTP 0,01 % (m/v); volume da gota extratora 3,0 µL; modificador permanente 400 µg de W.....	74
Figura 5.21	Efeito da força iônica na intensidade do sinal para o Pb. Condições: Volume de amostra 2,0 mL; 25,0 µg L ⁻¹ de Pb em HNO ₃ 0,1 % (v/v); DDTP 0,01 % (m/v); volume da gota extratora 3,0 µL; tempo de extração 7 min; modificador permanente 400 µg de W.	74

Lista de Tabelas

Tabela 2.1 Concentração máxima de metal, em $\mu\text{g L}^{-1}$, permitida pelo CONAMA em água doce e água salina.	7
Tabela 2.2 Metodologias publicadas para a determinação seletiva das diferentes espécies de cromo.	9
Tabela 2.3 Métodos publicados para determinação de diferentes analitos em amostras aquosa utilizando SPE.	16
Tabela 2.4 Aplicação de SPE para pré-concentração de metais.	18
Tabela 4.1 Parâmetros operacionais do ICP-MS.	36
Tabela 4.2 Programa FIAS 400 usado para pré-concentração e eluição.	38
Tabela 4.3 Parâmetros operacionais do F AAS para chumbo e cromo.	40
Tabela 4.4 Programa de temperatura e tempo para a determinação de chumbo GF AAS.	45
Tabela 4.5 Programa de temperatura para a deposição de tungstênio como modificador na plataforma de grafite usando GF AAS.	46
Tabela 5.1 Parâmetros analíticos obtidos para o sistema de pré-concentração estudado.	55
Tabela 5.2 Concentrações obtidas para Cd, Cu, Ni, V, Zn, Co e Pb nas amostras de referência certificadas.	56
Tabela 5.3 Análise das amostras de água (sistema de abastecimento e água do mar) mostrando as concentrações medidas, concentrações adicionadas e as recuperações.	58
Tabela 5.4 Análise das amostras de água (coletadas em piezômetros) mostrando as concentrações medidas, concentrações adicionadas e as recuperações.	59
Tabela 5.5 Fatores e níveis usados no planejamento fatorial.	61
Tabela 5.6 Matriz do planejamento fatorial completo e a resposta analítica na pré-concentração de Cr(III) no sistema proposto.	61
Tabela 5.7 Matriz Doehlert para otimização final da vazão da amostra e pH da amostra.	64
Tabela 5.8 Matriz Doehlert para otimização da concentração do agente redutor e o tempo da reação para a redução do Cr(VI).	67

Tabela 5.9 Parâmetros analíticos de mérito.....	70
Tabela 5.10 Concentrações de cromo obtidas nas amostras reais e nos testes de recuperação.	72
Tabela 5.11 Concentrações de cromo total obtidas nos materiais de referência certificados submetidos ao procedimento de pré-concentração desenvolvido (n = 5).....	72
Tabela 5.12 Fatores e níveis usados no planejamento fatorial.	73
Tabela 5.13 Matriz do planejamento fatorial completo e a resposta analítica na pré-concentração de Pb(II) no sistema proposto.	74
Tabela 5.14 Matriz Doehlert para otimização final da vazão da amostra e vazão do eluente.	74
Tabela 5.15 Níveis e fatores usados no planejamento fatorial fracionário para avaliação dos íons interferentes.	74
Tabela 5.16 Matriz resultante do planejamento fatorial fracionário e a resposta analítica.....	74
Tabela 5.17 Parâmetros analíticos de mérito.....	74
Tabela 5.18 Concentrações de Pb(II) obtidas nas amostras de água e nos testes de recuperação (média \pm sd, n=3).	74
Tabela 5.19 Concentrações de Pb (II) obtidas nos materiais de referência certificados submetidos ao procedimento de pré-concentração desenvolvido (n = 5).....	74
Tabela 5.20 Parâmetros analíticos de mérito para procedimento proposto de SDME-GF AAS.	74
Tabela 5.21 Resultados obtidos para a determinação de Pb (II) nos materiais de referência certificados usando SDME-GFAAS com tungstênio como modificador (n=3).....	74
Tabela 5.22 Comparação dos parâmetros analíticos obtido para o chumbo usando as diferentes metodologias desenvolvidas.	74

Lista de Abreviaturas

ICP-MS	Espectrometria de massa com fonte de plasma indutivamente acoplado
F AAS	Espectrometria de absorção atômica com chama
GF AAS	Espectrometria de absorção atômica com forno de grafite
ICP OES	Espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado
HPLC	Cromatografia líquida de alta performance
ETV	Vaporizador eletrotérmico
CV AAS	Espectrometria de absorção atômica com vapor frio
PAH	Hidrocarbonetos policíclicos aromáticos
BTEX	Benzeno, tolueno, etilbenzeno, xilenos
SPME	Micro-extração em fase sólida
LLE	Extração líquido-líquido
SPE	Extração em fase sólida
SDME	Extração com micro-gota
DLLME	Micro-extração líquido-líquido dispersivo
LLME	Micro-extração líquido-líquido
CONAMA	Conselho nacional do meio ambiente
FIA	Análise por injeção em fluxo
SiO ₂	Sílica gel
Nb ₂ O ₅ -SiO ₂	Sílica gel modificada com óxido de nióbio (V)
TRIS	tris(hidroximetil)aminometano
DDTP	O,O-dietilditiofosfato de amônio
C ₁₈	Polimetiloctadecil
RSD	Desvio padrão relativo
LOD	Limite de detecção
LOQ	Limite de quantificação
EF	Fator de enriquecimento
pH _{pcz}	pH do ponto de carga zero
BAS	Sítios ácidos de Brönsted
LAS	Sítios ácidos de Lewis

PTFE	Politetrafluoretileno
HS	Headspace
SRM	Método de superfície de resposta
SE	Eficiência de sensibilidade
p	Probabilidade estatística
IUPAC	União internacional de química pura e aplicada
CENA	Centro de Energia Nuclear na Agricultura
CASAN	Companhia de água e saneamento

Capítulo 1

Introdução

Atualmente, um dos problemas mais sérios que afetam o meio ambiente é a poluição química de natureza orgânica ou inorgânica, decorrente do aumento populacional e, conseqüentemente, das atividades industriais. Define-se como poluição qualquer alteração física, química ou biológica que produza modificação no ciclo biológico normal, interferindo na composição da fauna e flora do meio. A contaminação ocorre quando alguma substância estranha ao meio está presente [1-2].

As fontes de poluição podem ser de origem natural (como por exemplo, as erupções vulcânicas e os dejetos animais) ou de origem antropogênica (como por exemplo, a agricultura, os processos industriais e os dejetos domésticos). Assim, o monitoramento e controle de contaminantes têm sido alvo de estudos em diversos tipos de amostra ambientais, tais como solo, sedimento e ar. Contudo, a água tem um destaque especial por ser um recurso natural imprescindível para a geração e manutenção de todas as formas de vida do nosso planeta [1-3].

Uma grande variedade de contaminantes tem sido determinada em águas superficiais e subterrâneas, tais como, fenóis [4], hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (PAH) [5], benzeno, tolueno, etilbenzeno, xilenos (BTEX) [6], ésteres de ftalato [7], metais pesados [8], entre outros. Este monitoramento se deve à alta toxicidade e aos efeitos adversos que estes contaminantes causam ao homem e à biota [4-8]. Os organismos vivos tendem a acumular metais pesados e contaminantes orgânicos em seus tecidos, mesmo quando os níveis desses compostos presentes na água estão abaixo da concentração máxima admitida pela legislação, acarretando riscos de contaminação dentro da cadeia trófica [1-3].

Apesar dos avanços instrumentais ocorridos nas últimas décadas, muitos dos equipamentos utilizados para análises ainda apresentam limitações no que diz respeito a limites de detecção e tolerância a concomitantes. Desta forma, a determinação de contaminantes em nível de traços requer o isolamento e subsequente pré-concentração do analito a partir da matriz. Muitos procedimentos com este objetivo são descritos na literatura, dentre os quais a micro-extração líquido-líquido (LLE) [9], extração em fase sólida (SPE) [10-11] e extração no ponto nuvem [12].

Entre esses métodos a SPE é particularmente atrativa para preparação de amostra com grande variedade de aplicações. Pequenas colunas preenchidas com material sorvente são usadas e a eluição, geralmente, feita com pequeno volume de eluente. A fácil adaptação em sistema em linha e a disponibilidade de vários sorventes são vantagens importantes desta técnica [11].

A extração líquido-líquido é um procedimento clássico de extração que até recentemente era muito utilizada para preparação de amostra, entretanto devido as suas desvantagens, como o uso de grandes quantidades de solventes (geralmente de alta toxicidade), este método tem sido modificado para novas configurações [12]. Entre as novas configurações estão a extração com microgota (SDME) [13] e a micro-extração líquido-líquido (LLME) [14]. O princípio destes métodos é similar ao da extração líquido-líquido convencional, contudo apresentam vantagens como a minimização na quantidade de solvente utilizado, simplicidade de operação, baixo custo e consumo de tempo.

Capítulo 2

Revisão Bibliográfica

2.1 Aspectos relevantes sobre os metais

Os metais apresentam um importante papel no sistema biológico dos seres vivos. Muitos destes elementos são indispensáveis e essenciais para a vida em concentrações em nível de traço, mas podem se tornar tóxicos em altas concentrações. Alguns metais não são essenciais e em baixas concentrações já apresentam alta toxicidade. Devido a este fato, o monitoramento destes elementos, em diversos tipos de amostras, tem despertado grande interesse em química analítica [15].

Um dos fatores importantes que distingue metais de outros poluentes é que eles não são biodegradáveis, e seu potencial de toxicidade depende de sua forma química. Com a crescente atividade industrial, grandes quantidades de metais que se apresentavam em suas formas inertes na natureza têm sido mobilizadas para a biosfera, causando a contaminação de diversos ecossistemas [16].

A seguir, será apresentada uma breve descrição sobre os metais que foram foco deste trabalho.

Cádmio é um constituinte natural da crosta terrestre e, geralmente, encontra-se como mineral combinado nas formas de cloreto, óxido ou sulfato de cádmio. Na indústria, ele é usado na produção de baterias, pigmentos, revestimento para metais, entre outros. O cádmio é liberado para a atmosfera através da queima de combustíveis fósseis, mineração e resíduos industriais, e suas partículas podem ser dispersas a longas distâncias, antes de se depositarem no solo ou na água. O cádmio permanece no organismo por longo tempo e pode se acumular depois de anos de baixos níveis de exposição, causando sérios riscos à saúde, sendo considerado carcinogênico [17,18].

Cobalto é um elemento natural encontrado em rochas, solos, água, plantas e animais. O cobalto é usado na produção de motores de avião, ferramentas para tritar e cortar, articulações artificiais para o joelho, entre outros. O cobalto radioativo (^{60}Co) tem usos na medicina, em radioterapia para pacientes com câncer, já o ^{57}Co é usado em pesquisas clínicas e científicas. É liberado para o ambiente por fontes naturais, pela queima de combustíveis fósseis e na produção industrial. No ar, se associa a partículas que serão dispersas no solo e na água em poucos dias. Os alimentos e a água potável são as principais fontes de exposição do Co para o ser humano. O Co apresenta efeitos tanto benéficos como prejudiciais para a saúde humana, pois participa da formação da vitamina B₁₂, contudo em altos níveis pode produzir efeitos danosos aos pulmões e coração. A agência internacional para pesquisa do câncer (IARC) determinou que os compostos de Co são, possivelmente, carcinogênicos em seres humanos. A exposição a altos níveis de radiação de Co pode produzir alterações no material genético e conduzir a certos tipos de câncer [17, 19].

Cobre é um elemento abundante na natureza, considerado essencial para plantas e animais. Na indústria, é amplamente usado na fabricação de muitos produtos como ligas e fios condutores. Na agricultura, é usado para tratar doenças nas plantas, como o mofo, e para tratar a água. O Cu é liberado a partir de fontes naturais, como decomposição vegetal, queima de florestas ou pela ação antrópica, como exploração mineral, atividades industriais e agricultura. A ingestão de altos níveis de Cu produz danos ao fígado e rins. A agência de proteção ambiental (EPA) americana não classifica o Cu como carcinogênico, mas altos níveis de Cu causam danos à saúde humana [19, 20].

Chumbo apresenta abundância natural pequena na crosta terrestre. O Pb tem diferentes usos na indústria, como na fabricação de baterias, produtos metálicos e dispositivos para evitar irradiação com raios X. Devido a sua alta toxicidade, a quantidade de Pb usada em gasolina, tintas, cerâmicas, entre outros, tem sido reduzida drasticamente nos últimos anos. O Pb pode afetar quase todos os órgãos e sistemas no organismo humano, e o mais sensível é o

sistema nervoso, especialmente de crianças. Chumbo e seus compostos são considerados carcinogênicos [17,21].

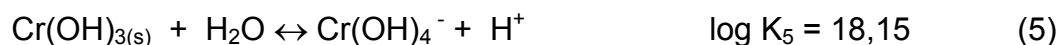
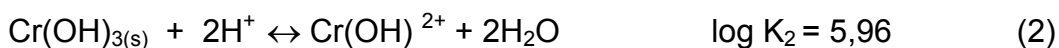
Níquel é um elemento muito abundante na natureza. É muito usado para fabricação de aço inoxidável e outras ligas metálicas. Os compostos de Ni são usados para colorir cerâmicas, em baterias e como catalisadores. O Ni é liberado para a atmosfera por erupções vulcânicas, queima de carvão e petróleo, e pelas indústrias. O níquel é bioacumulado em peixes e outros animais usados na alimentação. A exposição ao Ni pode causar reações alérgicas, doenças pulmonares, bronquites crônicas, doenças nos rins e fígado. Níquel e seus compostos são considerados carcinogênicos por agências regulamentadoras [17, 19].

Vanádio e seus compostos podem ser encontrados na crosta terrestre em rochas, em certos minerais de ferro e em depósitos de petróleo cru. Na indústria, o V é misturado com ferro para fabricação de motores de aviões, e o óxido de V é componente de um tipo especial de aço usado em partes de automóveis. O V entra no meio ambiente através de fontes naturais e pela queima de combustíveis fósseis. A exposição a altos níveis de V pode causar efeitos prejudiciais à saúde, afetando principalmente os pulmões, garganta e olhos. Não há estudos disponíveis sobre a carcinogenicidade em seres humanos [17, 19].

Zinco é um dos elementos mais abundantes da crosta terrestre. Os compostos de Zn são usados na indústria para obtenção de tintas, preservativos da madeira, em ligas de latão e bronze, etc. O Zn é liberado ao ambiente por processos naturais e antropogênicos como a queima de combustível fóssil e mineração. O Zn é um elemento essencial e pequenas quantidades devem ser ingeridas diariamente. Contudo, a ingestão de grandes quantidades de Zn pode causar distúrbios estomacais, anemias e pode alterar níveis de colesterol. Os efeitos nocivos são observados quando ingeridas quantidades de 10 a 15 vezes maiores que o necessário para manter boa saúde. As agências regulamentadoras consideram o Zn como não carcinogênico [17,19, 22].

Cromo é obtido do minério cromita (FeOCr_2O_3), metal de cor cinza. Os dejetos de resíduos industriais são as principais fontes de contaminação das águas com este metal. Entre as inúmeras atividades industriais as quais utilizam Cr destacam-se a galvanoplastia, soldagens, produção de ligas ferro-cromo, curtume, produção de cromatos, dicromatos, pigmentos e vernizes [16,17]. O cromo é considerado não essencial para plantas, mas um elemento traço essencial para animais. Cromo trivalente é reconhecido atualmente como essencial para o metabolismo de carboidratos e lipídeos, sendo que sua função está relacionada com o mecanismo de ação da insulina. O Cr hexavalente tem mostrado ser carcinogênico [23,24].

Em águas naturais as principais espécies do Cr trivalente são o Cr^{3+} , $\text{Cr}(\text{OH})^{2+}$, $\text{Cr}(\text{OH})_2^+$, $\text{Cr}(\text{OH})_4^-$ [25]. Assumindo que estas espécies se encontram em equilíbrio com $\text{Cr}(\text{OH})_{3(s)}$, a distribuição das espécies em equilíbrio, pH dependente, é governada pelas reações (1) a (5):



O cromo hexavalente pode estar presente nas formas de cromato (CrO_4^{2-}) dicromato ($\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$), hidrogeno cromato (HCrO_4^-), além de ácido crômico [25]. Os equilíbrios químicos das espécies de Cr (VI) podem ser descritos conforme as equações (6) a (8):





Devido a diferenças entre os estados de oxidação das espécies químicas de Cr e sua toxicidade, há uma crescente importância para o monitoramento das concentrações das espécies químicas individuais, bem como a concentração de Cr total. Por este motivo, um dos objetivos deste trabalho é o desenvolvimento de uma metodologia para especiação de Cr. O próximo item abordará melhor o tema especiação com ênfase para a especiação de cromo.

Na Tabela 1 estão descritas as concentrações máximas permitidas dos metais pelo CONAMA para água doce de classe 1, ou seja, água potável e para água salina de classe 1, ou seja, destinada a aquicultura e a atividade de pesca entre outros. (CONAMA, Resolução Nº 357 de 17 de março de 2005) [26].

Tabela 2.1 Concentração máxima de metal, em $\mu\text{g L}^{-1}$, permitida pelo CONAMA em água doce e água salina.

Analito	Água doce	Água salina
Cádmio total	1,0	5,0
Chumbo total	10,0	10,0
Cobalto total	50,0	-
Cobre dissolvido	9,0	5,0
Níquel total	25,0	25,0
Vanádio total	100,0	-
Zinco total	80,0	90,0
Cromo total	50,0	50,0

2.1.1 Especiação

Recentemente, grandes esforços no campo da biologia e ciências ambientais têm sido centrados na área de especiação química. Cada vez mais, se tem confirmado que a mobilidade, disponibilidade e distribuição das espécies químicas, não dependem somente de suas concentrações, mas principalmente das associações químicas e físicas que ocorrem no ambiente. Mudança no ambiente, quer seja de origem antropogênica ou natural, pode influenciar o comportamento tanto de elementos essenciais, como de elementos tóxicos através da alteração das formas com que estes se apresentam no meio [27].

Nas recomendações da IUPAC 2000, o termo “espécie química” é definido como uma forma específica de um elemento definido com relação à composição isotópica, estado de oxidação ou eletrônico, e/ou estrutura molecular ou complexada. Foi estabelecida “análise de especiação” como a atividade analítica de identificação e/ou quantidade medida de uma ou mais espécie química individual, assim concluindo que “especiação” envolve a distribuição entre espécies químicas definidas em um sistema [27-28].

Nas últimas décadas, um grande número de metodologias analíticas tem sido publicado para separação e determinação de diferentes espécies químicas de selênio [29], cromo [30], mercúrio [31], arsênio [32], entre outros, presentes em diferentes tipos de amostras.

Como descrito anteriormente, o cromo apresenta diferentes espécies químicas e diferentes toxicidades, por este motivo muitas metodologias para especiação de cromo têm sido desenvolvidas. Na Tabela 2.2 são mostradas algumas metodologias descritas na literatura para a especiação de cromo em amostras de água.

Tabela 2.2 Metodologias publicadas para a determinação seletiva das diferentes espécies de cromo.

Espécie	Tipo de amostra	Metodologia	LD ($\mu\text{g/L}$) ^a	Ref. ^b
Cr(III), Cr(VI)	Água	Sorção seletiva Alumina ativada, F AAS	1,0 e 0,8	[25]
Cr(III), Cr(VI)	Água do mar	Complexação dietilditiocarbamato/ Coluna C ₁₈ , F AAS	0,02 e 0,02	[33]
Cr(III), Cr(VI)	Água natural	Mini-coluna sílica zirconizada e sílica modificada com fosfato de zircônio, F AAS	1,9 e 2,3	[34]
Cr(III), Cr(VI)	Água do mar	Brometo de tetrabutylamônio, HPLC-ICP OES com nebulização ultra-sônica	4,6 e 3,7	[35]
Cr(VI), Cr total	Efluente	Oxidação on-line de Cr(III) em Cr(VI) com H ₂ O ₂ , complexação defenilcarbazida, espectrofotometria	1000 e 500	[36]
Cr(III), Cr(VI)	Efluente	Coluna trimetilamônio funcionalizada com poliacrilato, polibutadieno anidrido maleico funcionalizado com ácido sulfônico, cromatografia iônica com ICP OES	0,5 e 0,5	[37]
Cr(III), Cr (VI)	Água de rio, efluente	Sorção na resina iminodiacetato, ICP OES	0,08 e 0,15	[38]
Cr (III), Cr (VI)	Água natural	Membranas líquidas suportadas, GF AAS	0,01	[39]
Cr (VI), Cr (III)	Água	Sorção em resina poliestireno, FIA-UV	0,05	[40]
Cr (VI), Cr total	Efluentes	Co-precipitação, F AAS	0,5	[41]
Cr (III), Cr (VI)	Água natural	Redução do Cr(VI) com sulfito de sódio, pré-concentração em mini-coluna de sílica gel modificada com óxido de nióbio (V), F AAS	0,34	*

^alimite de detecção; ^breferência; *trabalho proposto

A especiação de metais traço, em amostras ambientais, requer o emprego de métodos de determinação com elevada sensibilidade e seletividade. Por isso métodos como espectrometria de absorção atômica com chama (F

AAS) [33], espectrometria de absorção atômica com atomização eletrotérmica (ET AAS) [42], espectrometria de massa com plasma indutivamente acoplado (ICP-MS) [43], e espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado (ICP OES) [44], têm sido preferencialmente usados. Dependendo do analito de interesse, da matriz da amostra e da técnica utilizada, esses elementos podem ser quantificados em concentrações na ordem de ng L^{-1} .

Nos processos analíticos envolvendo AAS, ICP-MS, ou outras técnicas analíticas, sempre haverá a possibilidade de ocorrer algum tipo de interferência. O sinal do analito de interesse é geralmente afetado por algum componente da matriz da amostra que acompanham o analito durante a determinação analítica e cabe ao analista tomar a decisão mais apropriada para minimizar e/ou eliminar as possíveis interferências.

Para contornar este inconveniente, a combinação de métodos de extração e pré-concentração pode ser aplicada, permitindo a obtenção de uma fração da amostra original enriquecida com o analito de interesse. Esta combinação também reduz significativamente interferências por causa da eliminação da matriz, aumenta a sensibilidade e seletividade, com baixo custo e tempo razoável de análise.

2.2 Métodos de pré-concentração e extração

Apesar dos avanços instrumentais ocorridos nas últimas décadas, a determinação dos analitos diretamente na amostra original ainda apresenta muitos inconvenientes e por isso, o desenvolvimento de metodologias analíticas de separação e pré-concentração da amostra continua uma área atrativa em química [45,46].

Muitos procedimentos de separação e pré-concentração são baseados em técnicas clássicas, como a extração Soxhlet e a extração líquido-líquido (LLE) [45-47]. Na LLE, a etapa de extração é freqüentemente realizada com o uso de solventes orgânicos apropriados. No caso da análise de traços, os

solventes devem ser de alta pureza, o que implica em altos custos, além de muitos destes solventes apresentarem alta toxicidade.

As desvantagens da técnica convencional de LLE são atualmente bem relatadas na literatura [47]. Por estes motivos a LLE tem sido modificada para novas configurações, tais como, a micro-extração líquido-líquido [48,49], extração com micro-gota (SDME) [50] e micro-extração líquido-líquido dispersiva [51,52]. O princípio destas técnicas é similar ao da extração líquido-líquido convencional, contudo apresentam vantagens como a minimização na quantidade de solvente utilizado, simplicidade de operação, baixo custo e consumo de tempo.

2.2.1 Extração com micro-gota (SDME)

A SDME foi relatada pela primeira vez em 1996 por Jeannot e colaboradores [53], para a extração de compostos orgânicos em água, para posterior determinação em um cromatógrafo a gás. Desde então, a SDME tem sido muito aplicada como procedimento de extração, sendo bem estabelecida para a determinação de compostos orgânicos por técnicas cromatográficas [54]. Em SDME, a fase extratora é uma gota de um solvente imiscível em água, que é suspenso na ponta da agulha de uma seringa, a qual foi imersa em uma solução amostra [54].

Os dois principais modos de operação em SDME são a extração direta e a extração no *headspace*. A Figura 2.4 ilustra os dois modos de extração.

No modo de extração direta, a gota (fase extratora) é inserida diretamente na matriz da amostra e os analitos são transportados para a fase extratora. A agitação mecânica é empregada para acelerar o transporte dos analitos do meio da solução para a vizinhança da gota [54]. No modo *headspace* (HS), a gota é suspensa na região sobre a amostra, contida em um frasco de amostragem, onde os analitos são transportados através da barreira de ar antes de atingirem a gota. Este modo de extração pode ser aplicado para a extração de analitos que possam ser volatilizados, por exemplo, pela formação de hidreto [55].

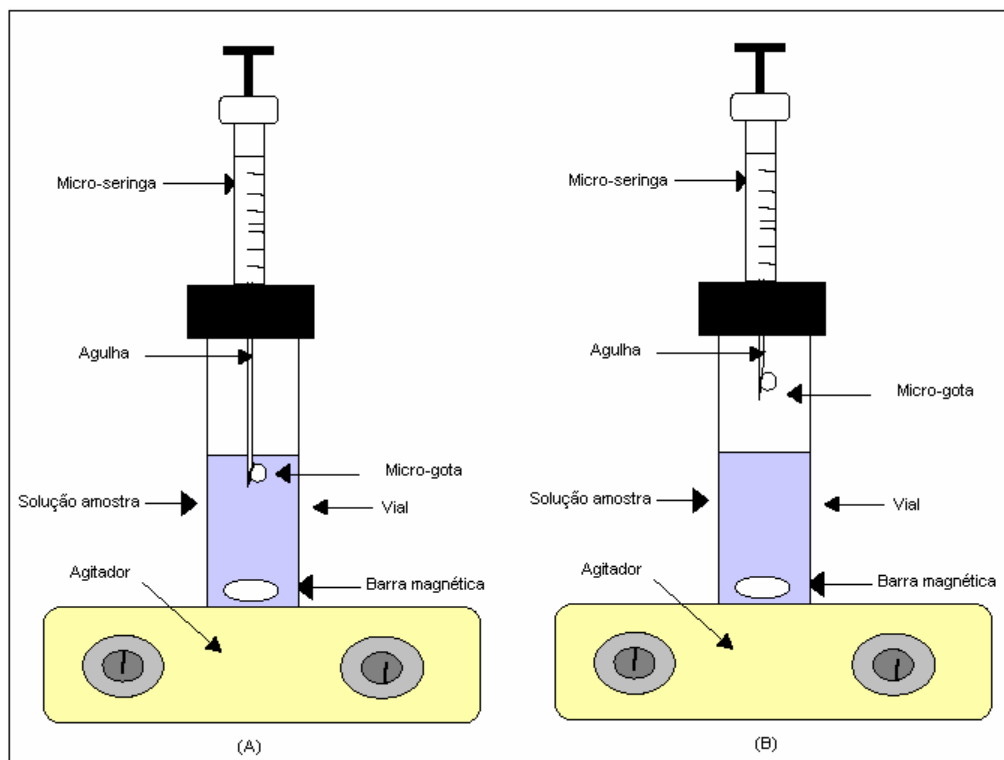


Figura 2.1 Desenho esquemático demonstrando os modos de extração em SDME: (a) extração direta, (b) extração no *headspace*.

O procedimento usando SDME consiste de dois passos: primeiro, os analitos da matriz da amostra são extraídos para a gota usando o modo de extração mais adequado. Em um segundo passo, os analitos extraídos pela gota são injetados no instrumento para a detecção dos analitos. Uma ilustração de ambos os passos pode ser visto na Figura 2.5.

Assim como em outras técnicas de extração, em SDME, vários fatores experimentais afetam a eficiência de extração e devem ser otimizados, entre os principais fatores, encontram-se: escolha do agente complexante, escolha do solvente extrator, tempo de extração, pH da amostra, agitação da amostra, força iônica do meio, volume da amostra e volume da gota extratora [54].

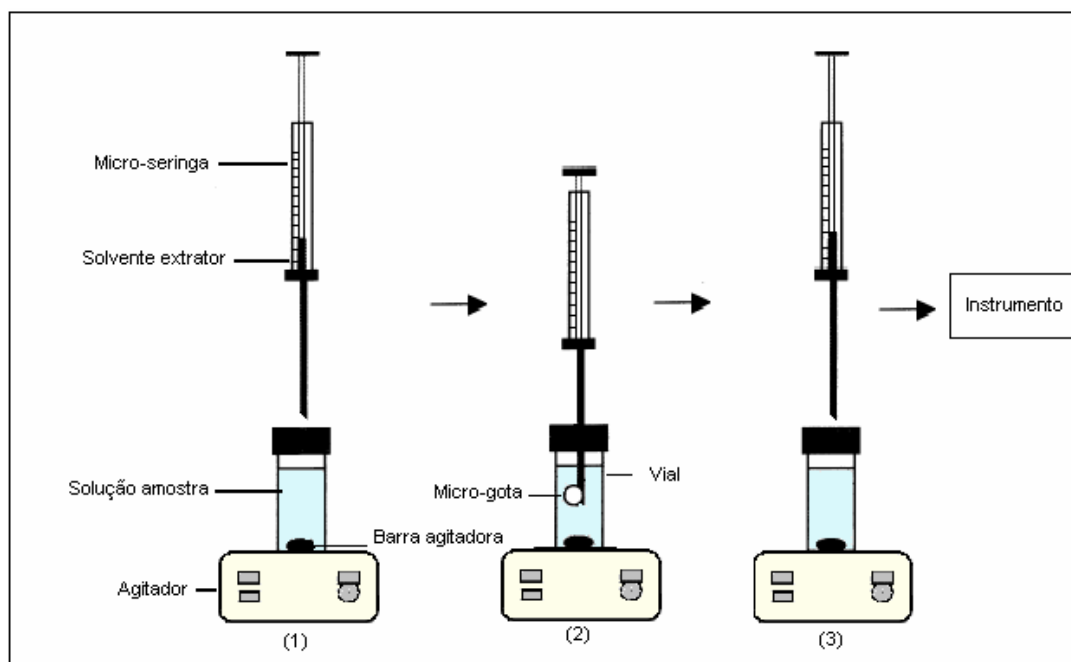


Figura 2.2. Etapas de Amostragem em SPME. (1) agulha perfura o septo do frasco amostrador, (2) a gota é exposta diretamente na matriz da amostra e os analitos são sorvidos, (3) a gota é retraída para dentro da seringa e o extrato é injetado no GF AAS.

Recentemente, a SDME passou a ser usada para extração e pré-concentração de compostos inorgânicos. Em 2003, Chamsaz e colaboradores [55] publicaram o primeiro estudo usando a combinação de HS-SDME com ET AAS para a determinação de compostos inorgânicos. Demonstraram ser um eficiente método de extração para determinação de arsênio em amostras de água, com bom fator de pré-concentração e sensibilidade, com limite de detecção de $45,0 \text{ ng L}^{-1}$ [55].

Em 2004, Xia e colaboradores [56] relataram o uso de SDME para a extração de outros elementos traço, ampliando o seu uso. A metodologia desenvolvida é baseada na extração do analitos em uma gota ($3 \text{ } \mu\text{L}$) de benzeno contendo benzoilacetona, usando ETV-ICP-MS para determinação de Be, Co, Pd e Cd em amostras biológicas. O mesmo grupo [57] também usou

clorofórmio contendo 8-hidroxiquinolina para extração de Cd e Pb de amostras ambientais e biológicas com detecção por ETV-ICP-MS.

O método de extração no *headspace*, em combinação com geração de hidreto e detecção por GF AAS foi utilizado para determinação de selênio [58], metilmercúrio [59] e arsina [60].

A SDME é, portanto, uma técnica recente para a extração e pré-concentração de metais, oferecendo um grande potencial de aplicação para diferentes tipos de amostras, bem como diferentes analitos.

2.2.2 Extração em Fase Sólida

A extração em fase sólida (SPE) é uma técnica muito empregada para a extração e/ou pré-concentração de analitos presentes em matrizes complexas. A SPE emprega sorventes recheados em cartuchos, seringas ou discos e os mecanismos de retenção são idênticos àqueles envolvidos em cromatografia líquida em coluna [61]. O princípio da SPE envolve a partição do analito entre duas fases, uma fase líquida (amostra) e uma fase sólida (sorvente).

A solução amostra contendo o analito passa através do cartucho, preenchido com o sorvente apropriado, sendo o analito retido pelos sítios ativos do sorvente. Em uma segunda etapa, o analito é eluído usando-se pequenos volumes de um eluente adequado.

O uso de mini-colunas é um procedimento comum para a extração de elementos traços em vários tipos de amostras. As vantagens mais importantes deste método são a fácil adaptação em sistema de pré-concentração em linha, o uso de pequenas quantidades de eluente e a disponibilidade de vários sorventes [61,62]. Uma mini-coluna típica usada em SPE pode ser vista na Figura 2.6.

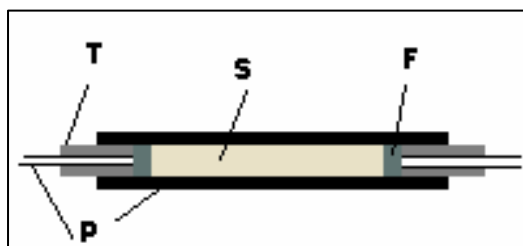


Figura 2.3 Diagrama esquemático de uma mini-coluna típica onde: T é o tubo de Tygon e P é o tubo de politetrafluoretileno (PTFE) usados como conexões, S é o material sorvente, F é o filtro (lã de vidro).

A SPE tem sido aplicada para a extração e/ou pré-concentração de muitos analitos em diferentes tipos de amostras tais como, amostras ambientais [63,64], álcool combustível [65], amostras biológicas [66], alimentos [67], entre outros.

Dentre os diferentes tipos de amostras ambientais, provavelmente, a água foi uma das mais estudadas devido à sua grande importância para a manutenção de todas as formas vivas do planeta. Muitas metodologias descrevem a determinação de diversos metais em amostras de água usando SPE. Na Tabela 2.3 estão mostradas algumas metodologias com este propósito.

Tabela 2.3 Métodos publicados para determinação de diferentes analitos em amostras aquosa utilizando SPE.

Analitos	Tipo de amostra	Metodologia	LOD	Ref ^a .
Pb	Água de rio e de consumo	Pré-concentração em linha em resina Chellex P, eluição com HNO ₃ e detecção por F AAS.	1,8 µg L ⁻¹	[68]
Cr, Ni, Cu, Cd, Pb	Água de lagoa	Pré-concentração em Amberlite XAD-16, eluição com HCl em acetona, detecção por F AAS e GF AAS	0,002 a 0,054 µg L ⁻¹	[69]
MeHg, Hg(III)	Água do mar	Pré-concentração em linha em C ₁₈ imobilizado em sílica, complexação com DDTC, eluição com etanol, CV AAS	16 ng L ⁻¹	[70]
Cu, Cd	Água potável e de lagoa	Pré-concentração em linha em Nb ₂ O ₅ -SiO ₂ , eluição com HNO ₃ e detecção por F AAS	0,4 e 0,5 µg L ⁻¹	[9]
Mn, Cu, Co, Ni, Zn, Cd, Pb	Água do mar	Pré-concentração em 8-hidroxiquinolina imobilizada em tubo de silicone, eluição mistura de HCl-HNO ₃ , detecção por ICP-MS	0,003 a 0,054 µg L ⁻¹	[71]
Cu, As, Se, Cd, In, Hg, Tl, Pb, Bi	Água e material biológico	Pré-concentração em linha em C ₁₈ imobilizado em sílica, complexação com DDTP, eluição com metanol, ICP-MS	0,43 a 33 ng/L	[72]
Ag, Au, Te, U	Água e material biológico	Pré-concentração em linha em C ₁₈ imobilizado em sílica, complexação com DDTP, eluição com metanol, ICP-MS	0,05 a 2,24 ng/L	[73]
Pd	Água urbana	Pré-concentração em linha em alumina, eluição com KCN, ICP-MS	1,0 ng/L	[8]

^areferência.

Materiais sorventes usados em SPE

Diversos materiais sorventes são empregados em SPE, e a escolha do sorvente apropriado depende da natureza do analito de interesse e da matriz na qual ele se encontra. A capacidade de remoção de um analito de uma solução por um sorvente está vinculada à área superficial disponível e a cinética do processo com a velocidade de transporte do soluto para a interface. O mecanismo de retenção do analito depende da natureza do sorvente, e os principais mecanismos incluem adsorção, formação de quelatos e troca iônica [62], os quais são discutidos brevemente abaixo:

(i) A adsorção de elementos traço em sorventes pode ocorrer através forças de van der Waals ou interações hidrofóbicas. Interações hidrofóbicas ocorrem quando o sorvente é pouco polar. O sorvente deste tipo mais comumente usado é a sílica ligada a grupos funcionais octadecil (C_{18}). A eluição é usualmente realizada com solventes orgânicos, tais como, metanol e etanol. Para a adsorção de espécies iônicas neste tipo de material, é necessário a complexação do analito antes do processo de sorção. A escolha do agente complexante adequado pode levar a uma maior seletividade e especificidade do método usando SPE [61,62].

(ii) Agentes quelantes têm sido usados para a modificação de materiais sorvente e a sorção de íons metálicos. A ligação do íon metálico ao sorvente modificado com quelante depende de vários fatores, entre eles, a natureza, a carga e o tamanho íon metálico; a natureza do átomo doador presente no ligante (por exemplo: nitrogênio presente em grupos azo, oxigênio presente em grupo fenólico e enxofre presente em tiocarbamatos); o pH e a natureza do suporte sólido. Este tipo de resina apresenta boa seletividade [62].

(iii) Sorventes trocadores iônicos contêm grupos funcionais catiônicos ou aniônicos que, podem trocar o contra-íon associado por íons metálicos. Durante a extração, o contra-íon é deslocado da fase sólida pelo analito na forma iônica, o qual irá aderir à parte iônica da fase sólida. Os principais fatores que influenciam na extração envolvendo troca iônica são pH, seletividade do contra-íon, força iônica, eluente, vazões da amostra e do eluente [61].

A grande variedade de materiais sorventes e sua seletividade frente a determinados analitos podem explicar o fato de SPE ser uma ferramenta poderosa para extração e pré-concentração de íons metálicos. A Tabela 2.4 apresenta alguns materiais sorventes e suas aplicações.

Tabela 2.4 Aplicação de SPE para pré-concentração de metais.

Sorvente	Metodologia	Analitos	LOD, $\mu\text{g L}^{-1}$	Ref ^a .
Amberlite XAD-16	Complexação do analito com 1,5-difenilcarbazona, pré-concentração fora de linha, eluição com H_2SO_4 , detecção por F AAS	Cr (VI)	45	[74]
Cromosorb105	Complexação do analito com 8-hidroxiquinolina, pré-concentração fora de linha, eluição com H_2SO_4 detecção por ET AAS	Co	0,0134	[75]
Carvão ativado	Complexação do analito com θ,θ dietilditiofosfato, pré-concentração em linha, eluição com etanol detecção por F AAS	Pb	0,3	[76]
Carvão ativado	pré-concentração em linha, eluição com tiouréia detecção por F AAS	Pd	0,3	[77]
Sílica gel modificada 2-mercaptopbenzotiazol	Pré-concentração em linha, eluição com tiouréia detecção por F AAS	Ag	0,66	[78]
Alumina	Pré-concentração em linha, eluição com HNO_3 , detecção por ICP OES	Cr (III)	0,05	[79]

a = referência

A sílica

A sílica é um óxido inorgânico, representado por SiO_2 , no qual cada átomo de silício é coordenado por quatro átomos de oxigênio. Sua superfície possui diferentes tipos de grupos silanóis (≡SiOH) distribuídos na superfície e grupos siloxanos internos (≡Si-O-Si≡). Os grupos silanóis apresentam fraca acidez e as interações com íons metálicos são fracas. Além disso, a sílica é um sorvente que apresenta baixa seletividade e em pH básico pode ocorrer hidrólise. Consequentemente, a modificação da superfície da sílica gel tem sido realizada para a obtenção de sorventes com grande seletividade [80, 81].

A sílica tem sido muito usada como suporte para a imobilização de uma grande variedade de moléculas organofuncionais ou inorganofuncionais [80, 81]. A preferência pela sílica para preparação destes materiais é devida ao fato deste material atender a requisitos como estabilidade mecânica à alta pressão, facilidade de modificação de sua superfície, existência de um vasto conhecimento de sua estrutura e suas propriedades, sendo disponível comercialmente em uma grande variedade de tamanho de partículas, formas e tamanho de poros [82,83].

A organofuncionalização da superfície da sílica pode ser feita através da imobilização química ou adsorção física [62, 80]. Na imobilização química, ligações químicas entre os grupos da superfície da sílica e os compostos orgânicos são formados. No segundo modo, o composto orgânico é diretamente adsorvido nos grupos silanóis da superfície da sílica, pela passagem da solução do reagente através de uma coluna empacotada com o adsorvente ou misturando o adsorvente em uma solução contendo o reagente. Muitos reagentes têm sido investigados para a imobilização em sílica gel, entre eles 8-hidroxiquinolina [84], 2-mercaptobenzotiazol [78], 1,10-fenantrolina [85], 1,8-hidroxiantraquinona [86] e octadecil (C_{18}) [83].

Sílica e a modificação de sua superfície com óxidos metálicos

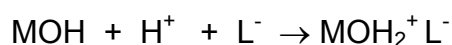
A síntese e caracterização de óxidos metálicos ancorados sobre a superfície da sílica têm sido investigadas por muitos pesquisadores nos últimos anos. Alguns exemplos são a sílica modificada com óxido de zircônio(IV) [87], com fosfato de zircônio [88], com óxido de titânio(IV) [89] e com óxido de nióbio(V) [90].

Os óxidos metálicos dispersos na superfície da sílica porosa são caracterizados por apresentar sítios ácidos de Lewis (LAS). Desta forma, os óxidos metálicos podem aceitar um par de elétrons e apresentam também os sítios ácidos de Brønsted (BAS), principalmente devido aos grupos MOH (óxido metálico ancorado em sílica), em que grupos hidroxilas podem doar prótons. Estes sítios ácidos podem adsorver muitas espécies moleculares, as quais podem ser imobilizadas por ligações covalentes ou interações eletrostáticas [91].

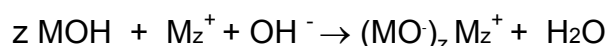
Em soluções aquosas, muito destes óxidos apresentam um caráter anfótero. É possível atrair seletivamente cátions ou ânions dependendo do pH e do ponto isoelétrico do óxido em questão, o qual é definido como o pH no qual a carga total é nula, pH_{pzc} [92,93]. Assim, em solução com pH abaixo do ponto isoelétrico, pode ser adsorvida espécie carregada negativamente, segundo as seguintes reações:



ou

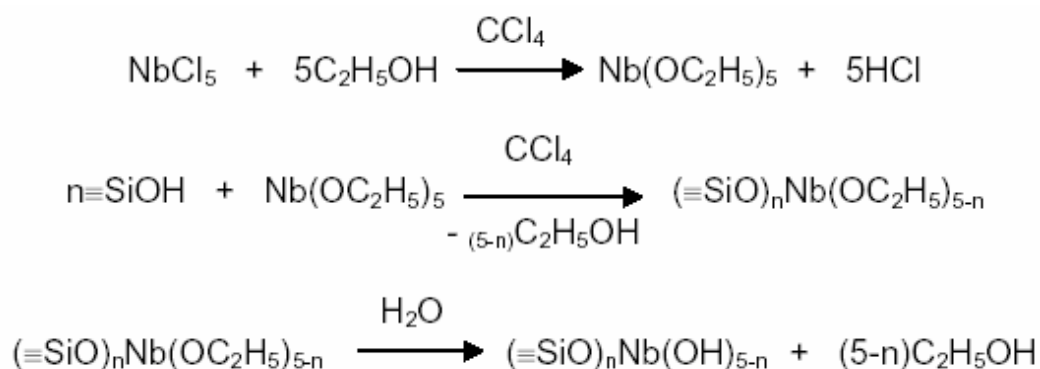


Em solução com pH acima do ponto isoelétrico, pode ser adsorvida espécie carregada positivamente, conforme a reação abaixo:



Onde MOH refere-se ao óxido metálico ancorado em sílica.

A modificação da superfície da sílica por haleto de metais de transição hidrolisáveis pode ocorrer com a formação de mono e policamadas. Esta modificação ocorre com o haleto do metal de transição na fase gasosa, em temperaturas elevadas, ou na presença de um solvente orgânico no qual o haleto é solúvel [91]. A sílica tem sido modificada com óxido de nióbio(V) conforme as seguintes reações [94]:



O óxido de nióbio(V) é um sólido estável, que dificilmente se reduz. Este óxido apresenta dois tipos de acidez em sua superfície: acidez de Lewis e acidez de Brønsted. Denofre e colaboradores [90, 94] sintetizaram e estudaram os parâmetros de adsorção, deste trocador iônico, para os íons Cu(II), Co(II), Ni(II), Zn(II), Cd(II) e Hg(II). A adsorção dos íons metálicos foi realizada em meio tamponado em pH 5.

Existe um grande número de publicações que discutem as propriedades de adsorção e aplicações para sílica modificada com óxidos metálicos [87-91]. A sílica modificada com óxido de nióbio foi aplicada para pré-concentração de cádmio, cobre, cobalto e zinco, em nível de traço, em amostras aquosas e álcool combustível utilizando sistema em linha e detecção por F AAS, demonstrando bons resultados [95].

2.2.3 Comparação entre os métodos de LLE, SPE e SDME

A Figura 2.7 ilustra uma comparação entre as etapas empregadas em extração líquido-líquido, extração em fase sólida e a extração com micro-gota. Observa-se que a LLE envolve várias etapas com grande manipulação da amostra, já em SPE e SDME isto não ocorre. O tempo total típico para extração empregando LLE pode chegar a atingir uma hora, enquanto que em SPE e SDME tempos menores que dez minutos são usados. Adicionalmente, o volume total de solvente orgânico consumido em LLE pode ser superior a 100 mL, contra alguns microlitros em SDME, e em SPE uns poucos mililitros são necessários, sendo que em SPE ainda pode ser evitado o uso de solventes orgânicos dependendo das características do material sorvente utilizado. Deve-se ressaltar ainda que a SPE é facilmente automatizada permitindo ainda uma maior frequência analítica. Por causa dos motivos expostos anteriormente, a SPE e a SDME foram selecionadas para o desenvolvimento das metodologias analíticas neste trabalho.

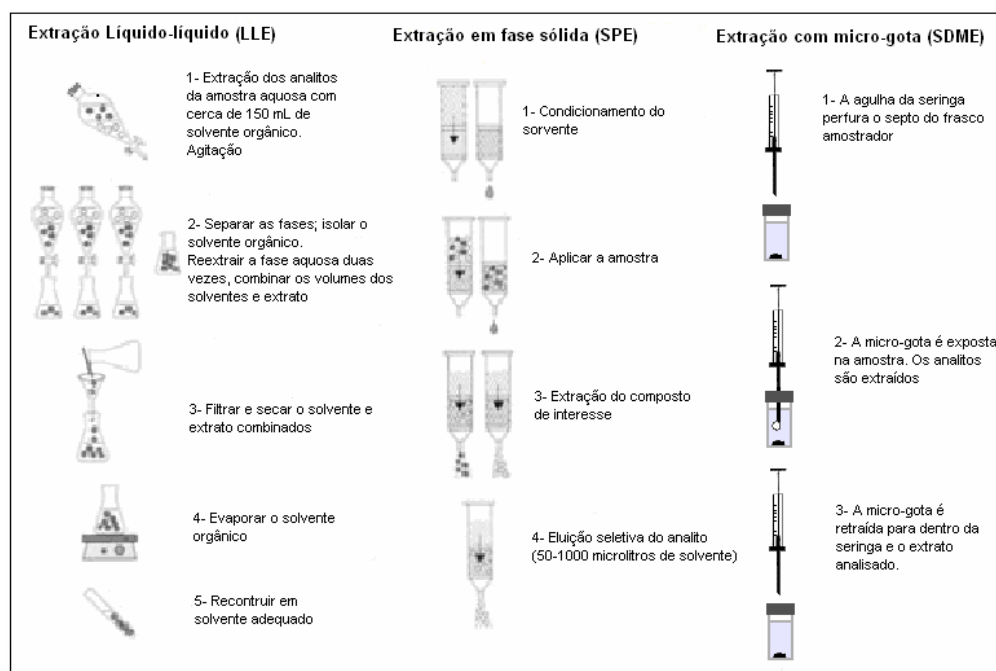


Figura 2.4 Comparação entre as etapas empregadas em LLE, SPE e SDME no desenvolvimento de metodologias analíticas (adaptado [61]).

2.3 Análise por injeção em fluxo

A análise por injeção em fluxo (FIA), técnica de automação proposta por Ruzicka e Hansen em 1975 [96,97], que foi introduzida no Brasil em 1976, por pesquisadores do Centro de Energia Nuclear na Agricultura CENA, Piracicaba, SP [98], tem se destacado devido à sua versatilidade, possibilidade de acoplamento com os mais distintos sistemas de detecção disponíveis em instrumentação analítica e por apresentar custos operacionais e de manutenção relativamente baixos.

Ruzicka e Hansen definiram a FIA como um método baseado na injeção da amostra líquida no fluxo contínuo não segmentado de um líquido adequado. A amostra injetada forma uma zona, que é então transportada ao detector, onde o sinal é continuamente registrado. No decorrer do processo, a amostra sofre dispersão na solução carreadora, que atua como diluente da zona injetada, resultando então gradientes de concentração. Em função da existência de gradientes de concentração e da medida ser feita com a zona de amostra em movimento, em relação ao sistema de detecção, um sinal transiente é gerado, considerado uma característica importante de sistemas FIA. A medida do sinal pode ser realizada como área de pico ou altura máxima de pico [99, 100].

A técnica FIA é baseada na combinação da injeção da amostra, dispersão controlada e tempo exato. Os dois aspectos básicos de FIA são a manipulação reprodutível das zonas de amostra e reagentes através de tempo preciso, e o cálculo quantitativo da concentração do analito sob condições termodinâmicas de não equilíbrio [97, 99].

O sistema FIA pode apresentar diferentes configurações, com diferentes dispositivos, dependendo de cada procedimento que se queira realizar. Assim, vários componentes podem ser utilizados, tais como, bombas peristálticas, amostradores, alças de amostragem, filtros, pontos de adição de reagentes, bobina de reação, colunas de sorção, comutadores que permitem o deslocamento de uma posição original até outra pré-selecionada no percurso analítico, entre outros [97, 100].

A técnica de FIA proporciona uma grande variedade de possibilidades

para extração e pré-concentração em linha, incluindo a co-precipitação, diálise, extração líquido-líquido ou extração em fase sólida [97]. Entre estes, a extração em fase sólida tem sido muito explorada para a pré-concentração de metais traço por ser de fácil adaptação em FIA, simplicidade, versatilidade, permitindo que o método seja utilizado em conjunto com diferentes detectores.

O desenvolvimento de metodologias analíticas envolve a otimização de vários parâmetros que afetam a eficiência de extração do analito. Em FI-SPE os principais parâmetros que devem ser otimizados são a vazão da amostra, a vazão do eluente, o tipo de eluente, a concentração do eluente, o volume do eluente ou tempo de eluição, a regeneração do material sorvente, o tempo de limpeza do sistema, o pH da amostra, o volume de amostra a ser percolado, entre outros dependendo do sistema proposto [101]. Assim, a otimização do sistema é um passo crucial para o desenvolvimento de um procedimento analítico eficiente e reprodutível.

2.4 Métodos de otimização de parâmetros experimentais

O método de otimização mais comumente usado no desenvolvimento de metodologias analíticas é a otimização univariada. Neste método, fixam-se todos os fatores que estão sendo pesquisados em certo nível, menos um deles. Este último é então variado até que se encontre a melhor resposta, passando então esta condição a ser fixada e um novo fator sofre variação, sendo cada variável otimizada separadamente. O processo se repete até que todos os fatores tenham sido adequados para fornecer a melhor resposta. Este tipo de otimização oferece como principal vantagem a fácil interpretação de dados obtidos, principalmente por se tratar de gráficos bidimensionais, relacionando a resposta analítica com a variável que está sendo otimizada [102, 103]. Entretanto, as interações entre as variáveis não são consideradas durante os experimentos desenvolvidos e o número de experimentos aumenta consideravelmente com o aumento do número de fatores [102].

O outro método que vem sendo muito aplicado nos últimos anos é o de otimização multivariada. Este tipo de otimização permite a avaliação da influência simultânea de todas as variáveis selecionadas num sistema, bem como as suas interações. Ele apresenta como vantagens o menor tempo de execução, menor consumo de reagentes e um menor número de experimentos requeridos quando comparado com a otimização univariada. Uma das principais desvantagens deste método é a difícil interpretação dos resultados [103-106].

A otimização multivariada pode ser realizada através do uso de ferramentas quimiométricas. A quimiometria pode ser definida como a área da química que usa métodos matemáticos e estatísticos para planejar ou selecionar procedimentos ótimos de medidas e experimentos, bem como extrair o máximo da informação química relevante com a análise dos dados. É uma ciência que relaciona medidas, feitas num sistema ou processo químico, ao estado do sistema, utilizando métodos matemáticos e/ou estatísticos [107].

Em geral, a otimização multivariada em procedimentos analíticos implica em dois passos: primeiro, uma investigação preliminar, usando planejamento fatorial, é realizada para saber se determinados fatores têm ou não influência na resposta analítica e, segundo, uma função matemática entre a resposta analítica e os fatores significantes do processo devem ser obtidos, e então os valores ótimos são calculados. Para obtenção da função resposta, planejamentos tais como a metodologia de superfície de resposta podem ser aplicados [108].

2.4.1 Planejamento fatorial

O planejamento fatorial é aplicado para investigar as influências de todas as variáveis experimentais e os efeitos de interação entre elas sobre a resposta analítica. Num planejamento fatorial, cada variável é denominada de fator, e nos planejamentos experimentais, quando os fatores são explorados em 2 níveis é comum codificá-los usando os sinais (+) e (-). A atribuição destes sinais aos níveis superiores ou inferiores é feita de forma arbitrária e não interfere na realização dos experimentos ou interpretação dos resultados, além de permitir

esquematizar o planejamento na forma de matrizes de planejamento. As matrizes de planejamento são tabelas utilizadas para organizar as informações relacionadas ao desenvolvimento de um planejamento fatorial [109].

O planejamento fatorial pode ser completo ou fracionário [109]. Os planejamentos são, preferencialmente, estudados em dois níveis, porque a depender da quantidade de fatores, o número de experimentos é grande, e o planejamento torna-se ineficiente. O número de experimentos em um planejamento fatorial completo em dois níveis é calculado como $N = 2^k$, onde k é o número de fatores. Se o número de fatores é grande, o mais indicado é o planejamento fatorial fracionário, quando será calculado como $N = 2^{k-y}$ [110]. Pontos centrais, no qual todas as variáveis assumem valores médios, devem ser incluídos para evitar o risco da perda da relação não linear no meio do planejamento e para determinar o intervalo de confiança pelas repetições submetidas [111].

O planejamento fatorial é importante para a análise dos efeitos individuais e suas interações. Os efeitos são definidos como a mudança ocorrida na resposta quando se move do nível baixo (-) para o nível alto (+) e podem ser classificadas em duas categorias: efeitos principais (é o efeito causado no sistema químico por uma das variáveis quando seus níveis passam de um valor para outro) e efeitos de interação (é o efeito causado no sistema em estudo pela interação de variáveis, e podem ser de segunda, terceira ou de ordem superior, de acordo com o número de fatores considerados na otimização) [109].

A avaliação do planejamento pode ser feita através de análise de variância (ANOVA), que estima a significância dos efeitos principais e das interações entre as variáveis [111-113]. O valor de p (probabilidade estatística) indica quando o efeito é estatisticamente significativo ($p > 0,05$). Os principais efeitos, bem como as interações das variáveis, podem ser também avaliados analisando o gráfico de Pareto [111-113], que se apresenta em barras horizontais, correspondentes aos valores absolutos dos efeitos estimados, sendo seccionado por uma linha vertical correspondente a um intervalo de

confiança de 95%. Efeitos que ultrapassam esta linha de referência devem ser considerados como significativos sobre a resposta analítica.

Após a triagem feita usando o planejamento fatorial, uma etapa de otimização propriamente dita deve ser realizada. Desta forma o método de superfície de resposta (SRM) tem sido usado com este intuito. Sua aplicação, a qual inclui um grupo de técnicas matemáticas/estatísticas, permite selecionar a combinação de níveis ótimos na obtenção da melhor resposta para uma dada situação através de modelos matemáticos de segunda ordem [106,114]. Com este intuito, o planejamento Doehlert vem sendo aplicado no desenvolvimento de metodologias analíticas por necessitar de poucos experimentos, os quais são mais eficientes e podem se mover através do domínio experimental.

2.4.2 Planejamento Doehlert

A matriz Doehlert é uma técnica quimiométrica usada para otimização multivariada de fatores experimentais. Este é um planejamento uniforme proposto por Doehlert em 1970 [115]. Tem sido muito usado em otimização de duas variáveis que consiste de um ponto central e seis pontos formando um hexágono, situado em um círculo. O número de experimentos (N) é dado por $N = k^2 + k + C_0$, onde k é o número de fatores e C_0 é o número de pontos centrais. Replicatas no nível central das variáveis é avaliado de maneira a validar o modelo por meio de uma estimativa da variância experimental [108].

No planejamento Doehlert, o número de níveis não é o mesmo para as duas variáveis. Uma variável é estudada em cinco níveis enquanto a outra é estudada somente em três níveis. Como uma regra geral, é preferível escolher a variável com maior efeito como a variável com cinco níveis na ordem de obter maior informação do sistema. O planejamento Doehlert permite localizar os pontos críticos (mínimo, máximo ou sela) de cada etapa do processo de otimização [102, 108]. A equação (1) de segunda ordem pode ser obtida através do planejamento Doehlert:

$$Y = a_2 + b_2A + c_2B + d_2A^2 + e_2B^2 + f_2AB \quad (1)$$

Onde: Y é a resposta experimental, A e B representam as variáveis a serem otimizadas, a_2 é um termo independente, b_2 e c_2 são os coeficientes dos termos lineares, d_2 e e_2 são os coeficientes dos termos quadráticos, f_2 é o coeficiente do termo de interação. Através das derivadas parciais é possível encontrar o ponto da função.

Para confirmar se esses valores correspondem a valores de máximo, de mínimo ou de sela, o critério de Lagrange é usado para checar a existência de pontos críticos na função de segunda ordem estimada com a matriz Doehlert e no cálculo do determinante de Hessian (2) baseado na função resposta:

$$H(A, B) = (\partial^2 Y / \partial A^2) (\partial^2 Y / \partial B^2) - (\partial^2 Y / \partial A \partial B)^2 \quad (2)$$

O ponto crítico, $(A, B) = (A_0, B_0)$, é de máximo se $H(A_0, B_0) > 0$ e $(\partial^2 Y / \partial A^2) (A_0, B_0) < 0$, é de mínimo se $H(A_0, B_0) > 0$ e $(\partial^2 Y / \partial A^2) (A_0, B_0) > 0$. O ponto de sela existe se $H(A_0, B_0) < 0$ [105,1106].

A aplicação de planejamento fatorial e matriz Doehlert tem sido usada para a otimização de metodologias analíticas. Ferreira e colaboradores [108], em um recente trabalho apresentam uma revisão da aplicação da matriz Doehlert com este objetivo.

Dutra e colaboradores [66], utilizaram o planejamento fatorial completo em dois níveis e quatro fatores, seguido do planejamento Doehlert com duas variáveis para a otimização de um sistema FI-SPE-F AAS para a determinação de Zn em amostras biológicas. Zougagh e colaboradores [105], aplicaram planejamento fatorial e matriz Doehlert para otimização de um sistema FI-SPE-ICP OES para determinação de Zn em amostras de água do mar.

Capítulo 3

Objetivo

Desenvolver metodologias analíticas para determinação de metais-traço em amostras de água com sistema de pré-concentração empregando extração em fase sólida e micro extração líquido-líquido. Detecção por ICP-MS e AAS foram utilizadas neste estudo.

3.1 Objetivos Específicos

- Verificar a viabilidade do uso de sílica gel modificada com óxido de nióbio(V) como sorvente em um sistema em fluxo em linha para pré-concentração simultânea de cádmio, cobre, níquel, vanádio, zinco, cobalto e chumbo e detecção por espectrometria de massa com plasma indutivamente acoplado.
- Desenvolver metodologia analítica a partir do sorvente sílica gel modificada com óxido de nióbio(V) e aplicar otimização multivariada para a especiação de cromo em amostras aquosas por espectrometria de absorção atômica em chama.
- Desenvolver metodologia usando sílica gel modificada com óxido de nióbio(V) e otimização multivariada para determinação de chumbo por espectrometria de absorção atômica em chama.
- Otimizar de forma univariada ou multivariada as variáveis químicas e de fluxo dos sistemas de pré-concentração descritos anteriormente.
- Desenvolver metodologia usando extração com gota única para determinação de chumbo por espectrometria de absorção atômica em forno de grafite.
- Determinar os parâmetros analíticos de mérito para cada metodologia de pré-concentração proposta.

- Analisar água potencialmente contaminada utilizando as metodologias desenvolvidas para os contaminantes inorgânicos selecionados.

Capítulo 4

Parte Experimental

Como neste trabalho foram utilizadas diferentes técnicas para o desenvolvimento das metodologias propostas (ICP-MS, F AAS, GF AAS), primeiramente será descrito o procedimento de limpeza dos aparatos e reagentes que foram de uso comum. Em seguida será descrito a instrumentação e os procedimentos de pré-concentração de cada metodologia proposta, as quais estão apresentadas em subitens. A Figura 4.1 apresenta um fluxograma que descreve as metodologias desenvolvidas para uma melhor visualização do trabalho.

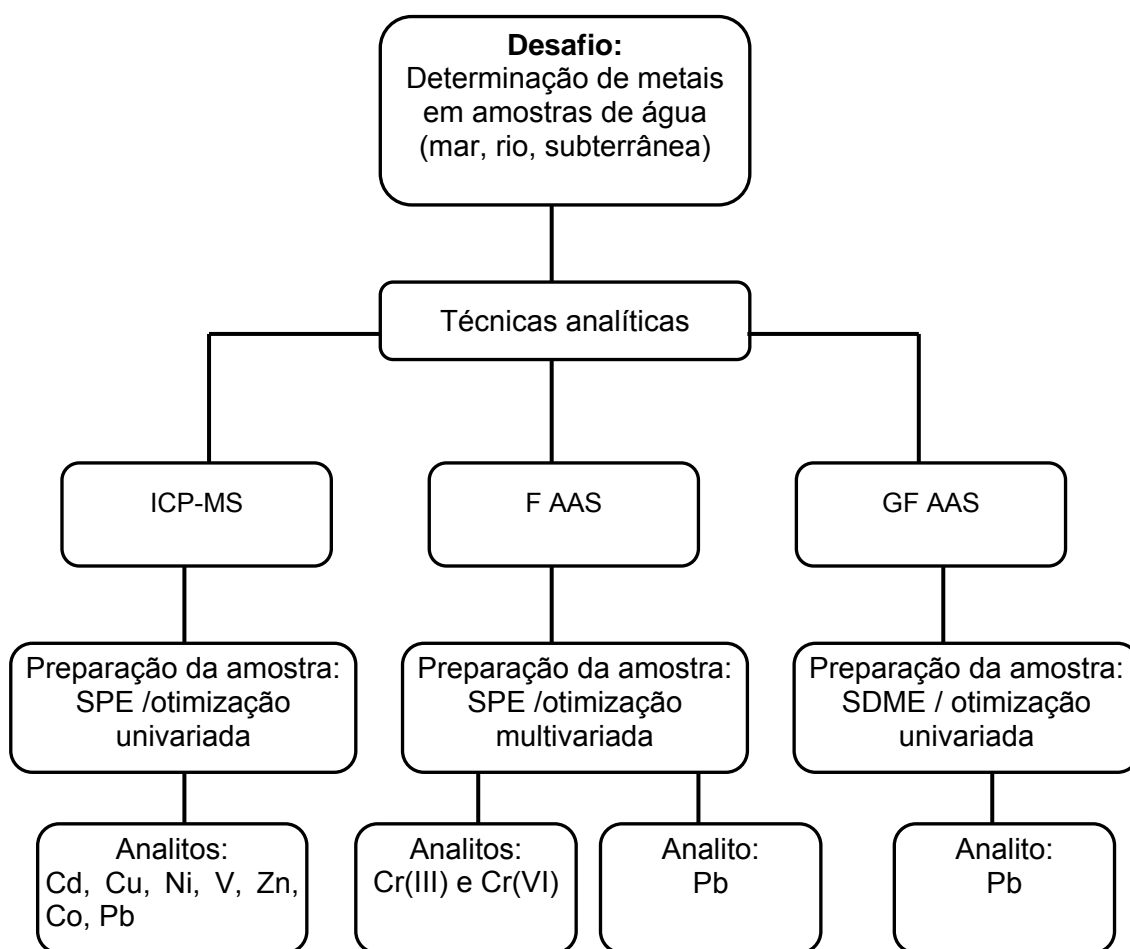


Figura 4.1 Fluxograma indicando as metodologias desenvolvidas neste trabalho, separadas de acordo com a técnica analítica utilizada.

4.1 Procedimento de limpeza dos aparatos

A limpeza dos aparatos de laboratório foi feita com o uso de uma solução 2 % (v/v) de Extran® (Merck, Darmstadt, Alemanha) por imersão por 24 h e enxaguados com água destilada. Os aparatos foram novamente submersos em solução 20 % (v/v) de ácido nítrico (Vetec, Rio de Janeiro, Brasil) durante 48 h e submetidos à banho de ultra-som por 1h. Finalmente, eles foram enxaguados com água desionizada.

4.2 Reagentes

As soluções foram preparadas empregando-se água deionizada (resistividade de 18,2 MΩcm) proveniente de um sistema de purificação de água Milli-Q® (Millipore®, Bedford, MA, EUA). Todos os reagentes utilizados foram de grau analítico. Ácido nítrico 65 % (Merck, Darmstadt, Alemanha) foi bi-distilado, abaixo de sua temperatura de ebulição em um destilador de quartzo (Kürner Analysentechnik, Rosenheim, Alemanha).

As seguintes soluções tampão foram usadas para o ajuste do pH desejado, quando necessário:

(i) Solução tampão de ftalato ácido de potássio-ácido clorídrico (ou hidróxido de sódio) para ajuste do pH entre 3 a 6. Através da mistura de soluções de ftalato ácido de potássio 0,1 mol L⁻¹ (Carlo Erba, Milão, Itália) e ácido clorídrico 0,1 mol L⁻¹ (Merck) foi obtido pH 3. Misturas de soluções de ftalato ácido de potássio 0,1 mol L⁻¹ e hidróxido de sódio 0,1 mol L⁻¹ (Vetec, Rio de Janeiro, Brasil) levaram a pH 4, 5 e 6.

(ii) Solução tampão de Sörensen (Na₂HPO₄ – KH₂PO₄, pH 7) foi preparada pela mistura das soluções de dihidrogenofosfato de potássio 0,067 mol L⁻¹ e monohidrogenofosfato de sódio 0,084 mol L⁻¹ (Vetec, Rio de Janeiro, Brasil).

(iii) Solução tampão de citrato de sódio foi preparada pesando-se 2,94 g de citrato de sódio e diluindo em água. O pH foi ajustado em 7 com adição de solução de ácido nítrico 0,1 mol L⁻¹, sendo o volume final da solução 100 mL.

(iv) Solução tampão tris(hidroximetil)aminometano (HOCH₂)₃CNH₂ 0,1 mol L⁻¹ (Aldrich, Milwaukee, USA) foi preparada pela dissolução de 1,2 g do reagente em água e o pH foi ajustado em 7, 8 e 9 com uma solução de ácido nítrico 0,1 mol L⁻¹, sendo o volume final de 100 mL.

As soluções de cádmio, cobre, níquel, vanádio, cobalto, chumbo e zinco foram preparadas por diluição a partir das respectivas soluções estoque contendo 1000 mg L⁻¹ (SPEX, Edison, NJ, EUA) de cada metal.

Para o estudo de interferentes sobre a adsorção do Pb pela sílica gel modificada com óxido de nióbio(V), os seguintes íons foram investigados: Na⁺;

Ca^{2+} ; K^+ ; Mg^{2+} ; Zn^{2+} ; Cu^{2+} e Fe^{3+} . Na^+ foi obtido do NaCl (Reagen, Rio de Janeiro, Brasil); Ca^{2+} e Mg^{2+} , do CaCO_3 e MgSO_4 , respectivamente (Vetec, Rio de Janeiro, Brasil); K^+ como KCl (Isofar, Rio de Janeiro, Brasil). Já os íons Zn^{2+} , Cu^{2+} e Fe^{3+} vieram de soluções padrão (SPEX, Edison, NJ, USA).

As soluções de Cr(VI) e Cr(III) foram preparadas fazendo-se as diluições apropriadas de uma solução estoque 1000 mg L^{-1} de $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ da (Merck, Darmstadt, Alemanha) e 1000 mg L^{-1} de $\text{CrCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (Vetec, Rio de Janeiro, Brasil), respectivamente.

Para a redução do Cr(VI) a Cr(III) foi usado como agente redutor o sulfito de sódio (Vetec, Rio de Janeiro, Brasil). A solução estoque foi preparada pesando-se $630,2 \text{ mg}$ de Na_2SO_3 e dissolvendo-se em 100 mL de água desionizada para uma concentração final de 50 mmol L^{-1} .

O agente complexante O,O-dietilditiofosfato de amônio (DDTP) (Aldrich Chemical Co, Milwaukee, USA) foi preparado diariamente pesando-se $0,1 \text{ g}$ e dissolvendo-se em água desionizada, para um volume final de 100 mL . O clorofórmio usado foi da Merck.

4.3 Preparação do material sorvente

A sílica gel modificada com óxido de nióbio(V) ($\text{Nb}_2\text{O}_5\text{-SiO}_2$) foi preparada de acordo com o procedimento a seguir: aproximadamente 22 g de pentacloreto de nióbio sublimado foram imersos em 300 mL de CCl_4 . A seguir, 40 mL de etanol seco foram adicionados lentamente. A mistura resultante foi agitada por 30 min a temperatura ambiente, sob uma atmosfera seca de nitrogênio, até completa dissolução do sal. Quando a evolução de HCl gasoso cessou, 75 g de sílica gel ativada (área superficial específica de $322 \text{ m}^2\text{g}^{-1}$ e diâmetro médio dos poros de 6 nm) foram adicionados à solução. A mistura foi submetida ao aquecimento e constante agitação na temperatura de refluxo do solvente, durante 52 h , sob atmosfera de nitrogênio. Em seguida, a sílica funcionalizada foi filtrada e lavada com CCl_4 e $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$ anidro, até eliminar todo HCl adsorvido. O material foi então aquecido por 4 h a uma temperatura de 140°C ,

sob alto vácuo. Então, a sílica resultante foi imersa em água bidestilada por 5 dias. A sílica modificada com óxido de nióbio(V) foi filtrada, lavada e seca em uma estufa a 100°C. A síntese e caracterização da sílica modificada está descrita em detalhes por Denofre e colaboradores [90, 94].

4.4 Instrumentação

4.4.1 Espectrometria de massa com plasma indutivamente acoplado

Um espectrômetro de massa com plasma indutivamente acoplado, modelo ELAN 6000 (Perkin Elmer-Sciex, Thornhill, ON, Canadá) equipado com sistema de nebulização pneumática, uma bomba peristáltica com tubos de bombeamento e sistema de análise por injeção em fluxo FIAS 400 (Perkin Elmer) foi utilizado. Checagens diárias do desempenho do equipamento foram realizadas antes do início do procedimento experimental. O monitoramento é feito através das contagens mínimas estabelecidas pelo fabricante para ^{24}Mg , ^{103}Rh e ^{208}Pb , além do controle do nível de óxidos e íons de dupla carga. Caso o instrumento não esteja de acordo com o mínimo exigido, novas otimizações são feitas. Estes mínimos são: ^{24}Mg : 20.000 contagens, ^{103}Rh : 150.000 contagens, ^{208}Pb : 100.000 contagens, CeO/Ce : < 0,03 e Ba^{++}/Ba : < 0,03.

Argônio 99,996 % (White Martins, São Paulo, Brasil) foi utilizado. Os parâmetros operacionais do instrumento estão resumidos na Tabela 4.1. Um pHmetro Mettler Toledo 320 foi usado para ajustar o pH das soluções.

Tabela 4.1 Parâmetros operacionais do ICP-MS.

Potência de Radiofrequência	1000 W
Cones amostrador/ <i>skimmer</i>	Pt
Medida do sinal	<i>Peak Hopping</i>
Leituras por replicata	240
Replicatas	3
Modo <i>auto lens</i>	On
Voltagem do detector	
Pulso	1000 V
Analógico	-1950 V
Vazão do gás	
principal	15,0 L min ⁻¹
auxiliar	1,0 L min ⁻¹
nebulizador	0,98 L min ⁻¹
Tempo morto	35 ns
Modo de operação do detector	<i>Dual</i>
<i>Dwell time</i>	25 ms

Sistema de pré-concentração em linha

O sistema de pré-concentração em fluxo utilizado, conforme mostra a Figura 4.2, é constituído de três bombas peristáltica, uma válvula rotatória e uma mini-coluna de Teflon, com comprimento e diâmetro interno de 43 e 3 mm, respectivamente. A coluna foi preenchida com 100 mg de sílica gel modificada com óxido de nióbio(V) (Nb₂O₅-SiO₂). Nas extremidades da mini-coluna, uma pequena quantidade de lã de vidro foi colocada, servindo de suporte para o material sorvente. Para o bombeamento, foram utilizados tubos de Tygon, enquanto tubos de politetrafluoretileno (PTFE) foram usados para conexões. Durante as etapas de pré-concentração e eluição foi evitada a entrada de ar no sistema em linha, para que não houvesse formação de bolhas na mini-coluna, de modo não afetar a eficiência de sorção.

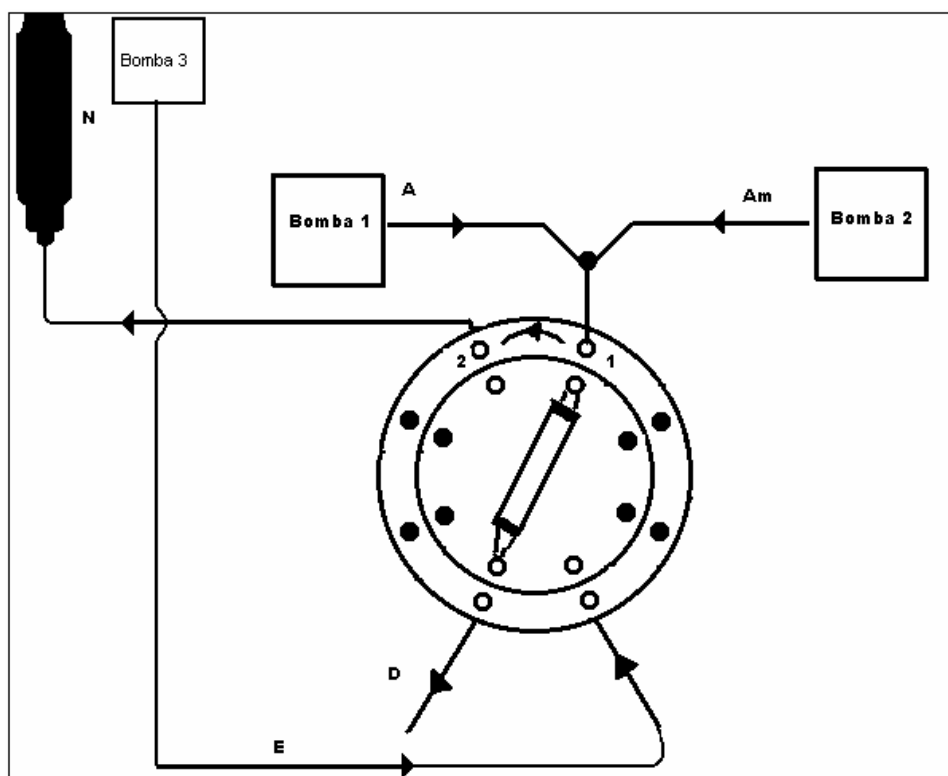


Figura 4.2 Diagrama do sistema em linha. (A= água; Am= amostra; D = descarte; E= eluente; N = nebulizador; 1= posição de pré-concentração; 2= posição de eluição)

O programa FIAS usado está descrito na Tabela 4.2. Para a pré-concentração do analito (Am), posicionou-se a válvula em 1, de forma tal que a amostra fluísse primeiramente através da mini-coluna, sendo o efluente descartado (D). Um fluxo de água (A) foi passado para eliminar resíduos da matriz da amostra antes da eluição. Durante a pré-concentração houve fluxo do eluente (E) para o sistema de nebulização realizado pela bomba peristáltica (bomba 3) do próprio sistema de nebulização do ICP-MS, com vazão fixa em cerca de $2,0 \text{ mL min}^{-1}$. Na etapa da eluição, a posição da válvula foi mudada para 2, de modo que o eluente passasse pela mini-coluna no sentido inverso ao de pré-concentração, sendo o eluato diretamente conduzido ao sistema de nebulização (N) do ICP-MS. A leitura do sinal transiente foi feita em área de pico.

Tabela 4.2 Programa FIAS 400 usado para pré-concentração e eluição.

Etapa	Tempo (s)	Bomba 1 (mL min ⁻¹)	Bomba 2 (mL min ⁻¹)	Posição da válvula	Operação
Pré-amostra	3	0	0	2	-
1	15	0	0	2	Regeneração
2	5	0	6,0	2	Preenchimento da linha
3	5	0	0	1	Rotação da válvula
4	60	0	6,0	1	Pré-concentração
5	10	6,0	0	1	Limpeza
6	30	0	0	2	Eluição

Procedimento de otimização

Para as determinações no ICP-MS, os seguintes isótopos foram escolhidos: ¹¹⁴Cd, ⁶³Cu, ⁵⁸Ni, ⁵¹V, ⁶⁶Zn, ⁵⁹Co e ²⁰⁸Pb. A escolha foi feita de acordo com suas abundâncias e/ou menor possibilidade de ocorrer interferências. As variáveis químicas e de fluxo foram otimizadas pelo método univariado para verificar as melhores condições de retenção simultânea dos analitos.

Como ponto de partida para a otimização do procedimento, a solução de trabalho continha simultaneamente 3,0 µg L⁻¹ de cada analito em estudo com o pH ajustado em 6; 0,5 mol L⁻¹ de ácido nítrico foi usado como eluente; a vazão do eluente e da amostra foram de 2,0 mL min⁻¹ e 6,0 mL min⁻¹, respectivamente. Um volume de 6,0 mL da solução de trabalho foi submetida ao processo de pré-concentração, para a otimização de cada variável.

Calibração, validação e aplicação

O procedimento de quantificação dos analitos foi realizado através de curva analítica externa. Estas curvas foram obtidas preparando-se soluções de calibração com concentrações entre 0,05 e 25,0 µg L⁻¹, e submetendo-as ao procedimento de pré-concentração previamente otimizado. Uma curva de

calibração com concentrações de 10 a 100 $\mu\text{g L}^{-1}$ em HNO_3 2,5 mol L^{-1} , sem pré-concentração dos analitos, foi utilizada para calcular o fator enriquecimento para a metodologia proposta.

As amostras de água foram coletadas em diferentes locais do município de Florianópolis-SC, Brasil. Amostras de água subterrânea (coletadas em poços de controle de qualidade de postos de gasolina - piezômetro), do sistema de abastecimento (uma amostra) e de água do mar (duas amostras) foram analisadas. As amostras de água foram previamente filtradas, através de uma membrana de celulose (Millipore) com tamanho de poros de 0,45 μm , foram acidificadas com HNO_3 e acondicionadas em fracos de polipropileno sob refrigeração em geladeira até o momento da análise. Uma alíquota foi tomada, o pH foi ajustado e então a amostra foi submetida ao procedimento de pré-concentração proposto.

Para a coleta das amostras de água dos poços de monitoramento que possuem cerca de 5 metros de profundidade foi utilizado um dispositivo confeccionado com tubo de PVC, conforme ilustra a Figura 4.3.

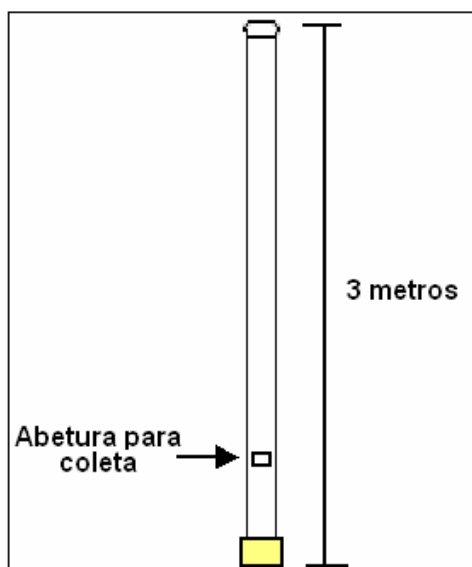


Figura 4.3 Desenho esquemático do dispositivo usado para coletar as amostras de água dos piezômetros.

A validação da metodologia foi realizada mediante de testes de recuperação e pela determinação dos elementos nos seguintes materiais de referência certificada: NASS-4, NASS-5 e CASS-4 (elementos traço em água do mar) National Research Council Canada-NRCC (Ottawa, Canadá) e NIST 1643e (elementos traço em água natural) National Institute of Standards & Technology (Gaithersburg, EUA).

4.4.2 Espectrometria de absorção atômica em chama

Neste trabalho foi utilizado um espectrômetro de absorção atômica Varian SpectrAA 50 (Vitória, Austrália), equipado com atomizador em chama e com corretor de fundo com lâmpada de arco de deutério. Foram utilizadas lâmpadas de cátodo oco para cromo e chumbo da Hitachi (Mitorika, Ibaraki, Japão). Os parâmetros operacionais estão descritos na Tabela 4.3. A chama utilizada foi ar-acetileno. Foi utilizado acetileno grau absorção atômica (White Martins, São Paulo, Brasil). As leituras em área de pico e altura de pico foram selecionadas dependendo do formato do pico e do menor desvio padrão relativo obtido para as medidas.

Uma das amostras certificadas analisada para a determinação de chumbo foi de cabelo, que necessitou de digestão ácida assistida por micro-ondas. Este procedimento foi realizado em um micro-ondas modelo MLS-1200 (Milestone, Sorisole, Itália) usando o programa recomendado pelo fabricante com cinco etapas com a seguinte ordem: 2 min a 250 W, 2 min a 0 W, 6 min a 250 W, 5 min a 400 W e 5 min a 650 W, seguido por 5 min de ventilação.

Tabela 4.3 Parâmetros operacionais do F AAS para chumbo e cromo.

Parâmetro	Cromo	Chumbo
Comprimento de onda (nm)	357,9	217,0
Corrente da lâmpada (mA)	5,0	5,0
Fenda espectral (nm)	0,7	1,0
Tipo de chama	reduzida	oxidante
Modo de leitura	Altura de pico	Área de pico

Sistema de pré-concentração em linha

O diagrama do sistema em linha usado para o desenvolvimento da metodologia para a determinação de cromo e para a determinação de chumbo é mostrado na Figura 4.4. O sistema em linha é formado por duas bombas peristálticas equipadas com tubos de Tygon, quatro válvulas solenóides de três vias e uma mini-coluna preenchida com 100 mg do sorvente $\text{Nb}_2\text{O}_5\text{-SiO}_2$. O sistema em linha foi acoplado ao F AAS. Na etapa de pré-concentração (A), a válvula V1 é ativada e as outras permanecem desativadas, sendo a solução amostra bombeada através da mini-coluna e o efluente descartado. Em seguida, no mesmo sentido ao de pré-concentração, água é bombeada, por 5 s, para eliminar resíduos da matriz da amostra que possam estar no volume morto da coluna. Na etapa de eluição (B), a válvula V1 é desativada e as válvulas V2, V3 e V4 são ativadas, então o eluente apropriado percola pela coluna no sentido inverso ao de pré-concentração e o eluato é carregado diretamente ao sistema de nebulização do F AAS.

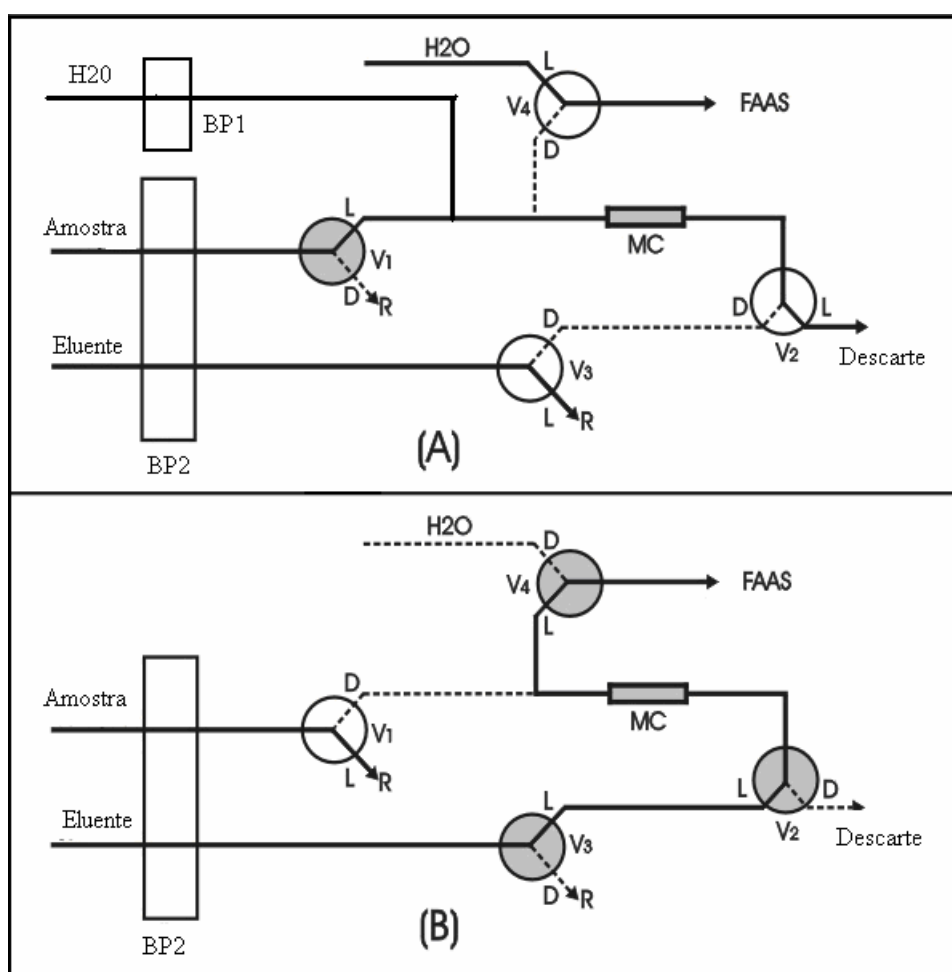


Figura 4.4 Sistema de pré-concentração em linha. (A): etapa de préconcentração e (B): etapa de eluição. L: via aberta, D: via fechada, V: válvula, MC: mini-coluna contendo o adsorvente, BP1 e BP2: bombas peristáltica, R: retorno do fluxo da amostra ou eluente. Círculo branco: válvula desativada e círculo cinza: válvula ativada.

Estratégia de otimização do sistema proposto para especiação do cromo

Em uma primeira etapa foram verificadas as condições ótimas de trabalho para a adsorção do Cr(III) em Nb₂O₅-SiO₂ usando o método multivariado. As variáveis químicas e de fluxo foram otimizadas através do planejamento fatorial de dois níveis e planejamento Doehlert. Ambos os planejamentos foram avaliados usando eficiência de sensibilidade (SE) como resposta analítica para

a otimização, porque inclui o tempo de pré-concentração como um fator implícito na resposta analítica [110]. A SE é definida como o sinal analítico de um sistema de pré-concentração em linha para um tempo de pré-concentração de 1 min [110]. Todos os experimentos foram realizados em duplicadas e 10,0 mL da solução de trabalho contendo $100,0 \mu\text{g L}^{-1}$ de Cr(III) foram usados.

Um estudo para a redução do Cr(VI) foi realizado usando planejamento Doehlert, tendo como fatores a concentração do sulfito de sódio (agente redutor) e o tempo de redução. A redução do Cr(VI) foi realizada usando sulfito de sódio em pH 1, sendo o meio reacional acidificado com HCl.

Calibração, validação e aplicação

O procedimento de quantificação dos analitos Cr(III) e Cr(VI) foi realizado através de curva analítica externa. Esta curva foi obtida preparando soluções de calibração com concentrações entre $5,0$ e $120,0 \mu\text{g L}^{-1}$ de Cr(III) e submetendo-as ao sistema de pré-concentração previamente otimizado. Uma curva de calibração com concentração entre $1,0$ e $3,0 \text{ mg L}^{-1}$, sem pré-concentração do analito, foi construída para calcular os fatores de recuperação e enriquecimento para a metodologia desenvolvida.

Amostras de água foram coletadas em um córrego próximo a uma fábrica de cromagem, em poço artesiano e do sistema da CASAN. As amostras foram coletadas na região da Grande Florianópolis – SC, Brasil e analisadas pelo sistema proposto. As amostras de água foram previamente filtradas, através de uma membrana de celulose (Millipore) com tamanho de poros de $0,45 \mu\text{m}$, foram acidificadas com HNO_3 e acondicionadas em frascos de polipropileno sob refrigeração (4°C). A concentração de Cr(VI) nas amostras foi calculada pela diferença entre a concentração total de Cr (após as amostras serem submetidas ao procedimento de redução) e a concentração de Cr(III).

A exatidão da metodologia foi determinada através de testes de recuperação e a análise de materiais de referência certificados NIST 1643e e NIST 1640 (elementos-traço em água natural).

Estratégia de otimização do sistema proposto para a determinação de chumbo

A otimização da metodologia para determinação do chumbo por F AAS foi realizada pelo método multivariado usando um planejamento fatorial de dois níveis envolvendo quatro variáveis e uma otimização final usando planejamento Doehlert. Todo o experimento foi feito em duplicada, usando 20,0 mL de solução contendo 100,0 $\mu\text{g L}^{-1}$ de solução de chumbo. As quatro variáveis escolhidas para o estudo foram: o tipo de tampão, a concentração do eluente (HNO_3), a vazão do eluente e a vazão da amostra. A resposta analítica usada foi área de pico.

Calibração, validação e aplicação

O procedimento de quantificação do Pb foi realizado através de curvas analíticas externas. Estas curvas foram obtidas preparando soluções de calibração com concentrações entre 5,0 e 120,0 $\mu\text{g L}^{-1}$ e submetendo-as ao sistema de pré-concentração previamente otimizado. Uma curva de calibração com concentrações de 1,0 a 7,0 mg L^{-1} em HNO_3 0,5 mol L^{-1} , sem pré-concentração dos analitos, foi construída para calcular o fator enriquecimento.

Amostras de água do descarte ácido de mina da Carbonífera Criciúma (Criciúma – SC) e amostra de água do mar do município de Florianópolis-SC, Brasil foram analisadas. As amostras foram coletadas em frascos de polipropileno, foram filtradas, através de uma membrana de celulose (Millipore) com tamanho de poros de 0,45 μm , acidificadas com HNO_3 e armazenadas sob refrigeração (4 °C).. Os seguintes materiais certificados foram utilizados para determinação da exatidão da metodologia proposta: NIST 1643e e BCR 397 (cabelo humano) Community Bureau of Reference (Bruxelas, Bélgica). Além disso, testes de recuperações foram realizados nas amostras ambientais.

4.4.3 Espectrometria de absorção atômica em forno de grafite

Nesta etapa do trabalho, as medidas foram obtidas usando um espectrômetro de absorção atômica AAnalyst 100 (Perkin-Elmer, Norwalk, CT,

USA), equipado com atomizador eletrotérmico HGA-800 e com corretor de fundo de lâmpada de arco de deutério. Como fonte de radiação primária, utilizou-se lâmpada de cátodo oco para chumbo (Perkin Elmer), operada em 10 mA, sendo o comprimento de onda selecionado de 283,3 nm e a fenda espectral de 0,7 nm. Tubos de grafite revestidos com grafite pirolítico com plataforma de L'vov de grafite pirolítico (Perkin Elmer) para aquecimento longitudinal, utilizados em todos os experimentos. Utilizou-se no sistema argônio como gás de purga e de proteção, com pureza de 99,996% (White Martins, São Paulo, Brasil). Todas as medidas foram realizadas usando absorvância integrada (área de pico). O programa de temperatura para determinação de Pb no GF AAS pode ser visto na Tabela 4.4.

Tabela 4.4 Programa de temperatura e tempo para a determinação de chumbo GF AAS.

	Etapa	Temperatura (°C)	Rampa (s)	Permanência (s)	Vazão de Argônio (mL min ⁻¹)
1	Secagem	70	10	5	250
2	Pirólise	700	10	10	250
3*	Atomização	1700	0	4	0
4	Limpeza	2000	1	3	250

* Leitura

Recobrimento do tubo de grafite

Antes das análises para a determinação do Pb por GF AAS, a plataforma de L'vov foi tratada com tungstênio como modificador permanente. Para aplicar o modificador permanente na plataforma, foram realizadas 10 injeções de 40 µL de uma solução contendo 1000 mg L⁻¹ de W. O programa de temperatura aplicado para cada injeção individual pode ser observado na Tabela 4.5, resultando em uma massa depositada de 400 µg.

Tabela 4.5 Programa de temperatura para a deposição de tungstênio como modificador na plataforma de grafite usando GF AAS.

Temperatura (°C)	Rampa (s)	Aquecimento (s)	Vazão de Argônio (mL min ⁻¹)
90	5	5	250
120	15	15	250
140	25	25	250
1000	10	10	0
2000	0	0	250

Sistema de Microextração com gota única (SDME)

O sistema de microextração com gota única é formado por uma micro-seringa de 10 µL (Hamilton, Nevada, EUA), um suporte fixador, um agitador magnético (Microquímica, Palhoça, Brasil), um frasco amostrador com capacidade para 5,0 mL com septo de PTFE e uma barra magnética. O sistema é ilustrado na Figura 4.5.

Inicialmente, o frasco amostrador é preenchido com 2,0 mL da solução amostra (contendo o Pb e o agente complexante DDTP em meio ácido), a barra agitadora é colocada dentro do frasco e o frasco é fechado com septo de PTFE. A seringa é preenchida com 3 µL do solvente extrator e é fixada em um suporte. A agulha da seringa perfura o septo do frasco e então a micro-gota é exposta dentro da solução amostra para que ocorra a extração. A agitação magnética é acionada. Depois de um tempo pré-determinado a micro-gota é retraída para dentro da micro-seringa e o extrato (solvente orgânico mais o analito) é injetado no GF AAS para a análise.

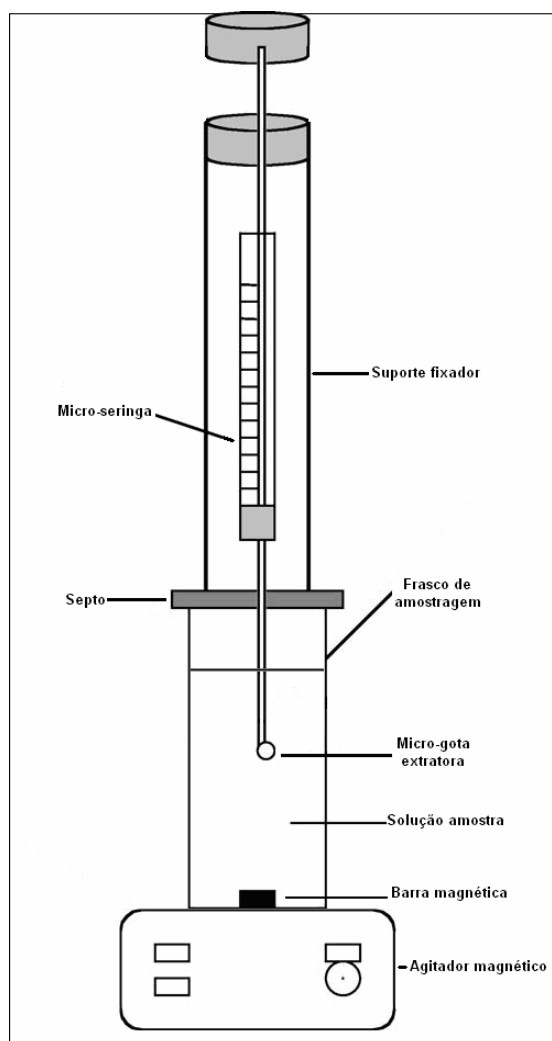


Figura 4.5 Desenho esquemático ilustrando o sistema de microextração com gota única.

Otimização do sistema de SDME para pré-concentração de Pb

A otimização foi feita pelo método univariado e as variáveis escolhidas foram: a temperatura de pirólise, a temperatura de atomização, a concentração do DDTP, o volume da gota, o tempo extração, a agitação da amostra e a força iônica do meio. Os parâmetros de partida relativos à solução extraída foram volume da amostra de 2,0 mL, contendo $3,0 \mu\text{g L}^{-1}$ de chumbo, acrescido de 0,1% (m/v) de DDTP. A solução foi acidificada com 0,1 % (v/v) de HNO_3 .

Calibração e validação

Uma curva de calibração externa foi levantada utilizando-se os parâmetros previamente otimizados na faixa de concentração de 1,0 a 15,0 $\mu\text{g L}^{-1}$ de Pb. Outra curva de calibração, sem pré-concentração, foi levantada para obter o fator de enriquecimento da metodologia proposta.

Os seguintes materiais de referência certificados foram usados para verificar a exatidão da metodologia: NIST 1640 (elementos traço em água natural), NIST 1643e (elementos traço em água natural) e NIST 1575 (acícula de pinheiro); SOIL-7 (solo) da International Atomic Energy Agency (Viena, Áustria) e STSD-2 (sedimento de rio) da CANMET (Ottawa, Ontário, Canadá).

As amostras sólidas (NIST 1575, SOIL-7 e STSD-2) foram digeridas antes do procedimento de pré-concentração por SDME-GFAAS. Alíquotas contendo aproximadamente 250 mg da amostra NIST 1575 foram pesadas em frasco de PTFE e 3,0 mL de HNO_3 e 1,0 mL de H_2O_2 foram adicionados. Para as amostras SOIL-7 e STSD-2 alíquotas contendo aproximadamente 0,100 mg foram pesadas e 3,0 mL de HNO_3 e 1,0 de HF foram adicionados. Todas as amostras e os brancos foram submetidos ao seguinte programa do micro-ondas: 2 min a 250 W, 2 min a 0 W, 6 min a 250 W, 5 min a 400 W e 5 min a 650 W, seguidos por 5 min de ventilação.

Capítulo 5

Resultados e discussão

Os resultados e discussão deste trabalho foram divididos por metodologia desenvolvida e cada uma será descrita separadamente a seguir.

5.1 Uso de sílica gel modificada com óxido de nióbio(V) em um sistema em linha para pré-concentração simultânea de cádmio, cobre, níquel, vanádio, zinco, cobalto e chumbo com detecção por ICP-MS.

As condições ótimas das variáveis químicas e de fluxo do sistema de pré-concentração foram estudadas pelo método univariado. Assim, o valor ótimo para cada parâmetro foi usado nos estudos posteriores. As condições iniciais descritas a seguir foram baseadas em trabalhos publicados sobre a adsorção de íons em $\text{Nb}_2\text{O}_5\text{-SiO}_2$ [95]. As principais diferenças apresentadas neste trabalho em relação ao trabalho publicado por Silva [95] foram a determinação e pré-concentração simultâneas dos analitos, além disso, o Pb, o V, o Ni foram pré-concentrados pela primeira vez no adsorvente $\text{Nb}_2\text{O}_5\text{-SiO}_2$.

Os parâmetros foram inicialmente fixados da seguinte forma: a pré-concentração foi realizada com 6,0 mL de uma solução contendo $3,0 \mu\text{g L}^{-1}$ de Cd, Cu, Ni, V, Zn, Co e Pb, tamponada em pH 6,0, com uma vazão de $6,0 \text{ mL min}^{-1}$. Para eluição foi usado HNO_3 $0,5 \text{ mol L}^{-1}$, sendo a vazão fixada em $2,0 \text{ mL min}^{-1}$. Esta vazão foi mantida em todo o estudo, por causa do melhor desempenho do nebulizador do ICP. Todas as medidas foram feitas em triplicata e em área de pico. Os gráficos são apresentados em termos de contagens normalizadas, que é definida como a razão dos sinais pelo maior sinal analítico obtido para um dado elemento em um dado experimento.

5.1.1 A influência do pH da amostra

O pH da amostra é uma condição crítica que afeta diretamente a adsorção dos íons no sorvente $\text{Nb}_2\text{O}_5\text{-SiO}_2$, o qual é um trocador catiônico. O estudo do pH foi efetuado variando o pH da solução de 3 a 9, e o ajuste foi feito com a adição de solução tampão apropriada para cada pH desejado. A Figura 5.1 ilustra os resultados obtidos para os analitos Cd, Cu, Ni, V, Zn, Co e Pb.

O resultado mostra que para quase todos os analitos, valores de pH menores que 5 não permitem uma adsorção efetiva, provavelmente devido à competição entre os analitos e íons hidrônios pelos sítios ativos. A exceção foi o Pb, cuja adsorção foi efetiva em pH 5 a 8.

Entre pH 6 e 8 foi observada a maior intensidade de sinal para Cd, Cu, Ni, V, Co e Zn. Com um compromisso entre a intensidade analítica e pH da solução para adsorção dos analitos em estudo, foi escolhido pH 7 para estudos posteriores.

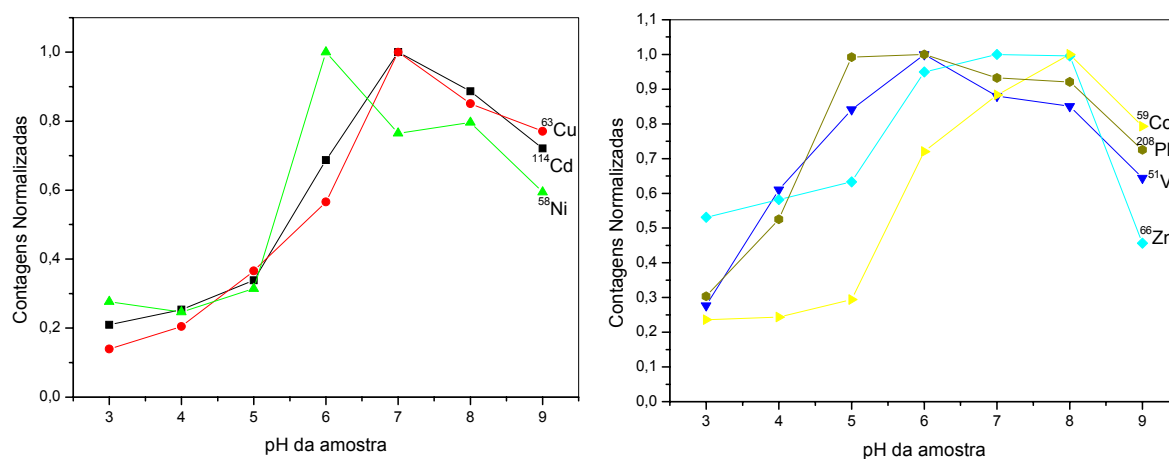


Figura 5.1 O efeito do pH da solução no comportamento da adsorção simultânea de $3,0 \mu\text{g L}^{-1}$ de Cd, Cu, Ni, V, Co, Zn e Pb em 100 mg de $\text{Nb}_2\text{O}_5\text{-SiO}_2$ (tempo de pré-concentração 1 min; eluição com HNO_3 $0,5 \text{ mol L}^{-1}$; vazão da amostra $6,0 \text{ mL min}^{-1}$; vazão do eluente $2,0 \text{ mL min}^{-1}$).

5.1.2 O efeito da concentração do eluente

O efeito da concentração do eluente na dessorção de Cd, Cu, Ni, V, Co, Zn e Pb da mini-coluna preenchida com Nb₂O₅-SiO₂ foi estudado, usando soluções de ácido nítrico em diferentes concentrações (0,25 – 2,5 mol L⁻¹). Concentrações maiores de ácido nítrico não foram usadas para evitar possíveis efeitos negativos no tempo de vida útil da mini-coluna e dos tubos de Tygon®. Vale ressaltar que a eficiência de sorção está diretamente ligada à ativação da coluna. Neste caso, o próprio eluente funciona como regenerador da mini-coluna. Como mostra a Figura 5.2, observa-se um maior sinal analítico para Zn na concentração de 0,25 mol L⁻¹ de HNO₃; para os outros analitos o sinal analítico aumenta com o aumento da concentração do eluente e o sinal máximo foi atingido na concentração de 2,5 mol L⁻¹ de HNO₃. Assim, com um compromisso entre a maior sensibilidade analítica alcançada para a maior parte dos analitos e a concentração do eluente, a concentração de 2,5 mol L⁻¹ de HNO₃ foi escolhida.

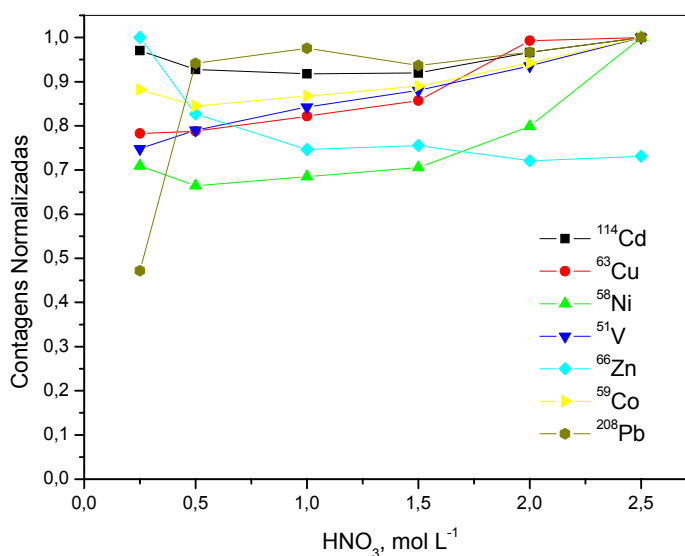


Figura 5.2 O efeito da concentração do eluente na dessorção simultânea de 3,0 µg L⁻¹ de Cd, Cu, Ni, V, Co e Pb em 100 mg de Nb₂O₅-SiO₂ (tempo de pré-concentração 1 min; pH da amostra 7; vazão da amostra 6,0 mL mim⁻¹; vazão do eluente 2,0 mL mim⁻¹).

5.1.3 O efeito da vazão da amostra

A vazão da amostra é um parâmetro operacional importante para a eficiência de pré-concentração e determina o volume de amostra a ser utilizado. Em geral, a vazão da amostra no sistema em linha é limitada pela pressão exercida e/ou eficiência de sorção. Efetuou-se o estudo em diferentes vazões ($0,7 - 7,0 \text{ mL min}^{-1}$) com volume de amostra fixo em 6 mL. A Figura 5.3 ilustra que com o aumento da vazão da amostra houve um aumento no sinal analítico e o máximo foi alcançado com vazão de amostra de $6,0 \text{ mL min}^{-1}$ para todos os analitos, sendo esta vazão escolhida para estudos posteriores. O formato dos picos dos analitos obtidos para a vazão da amostra selecionada pode ser observado na Figura 5.4.

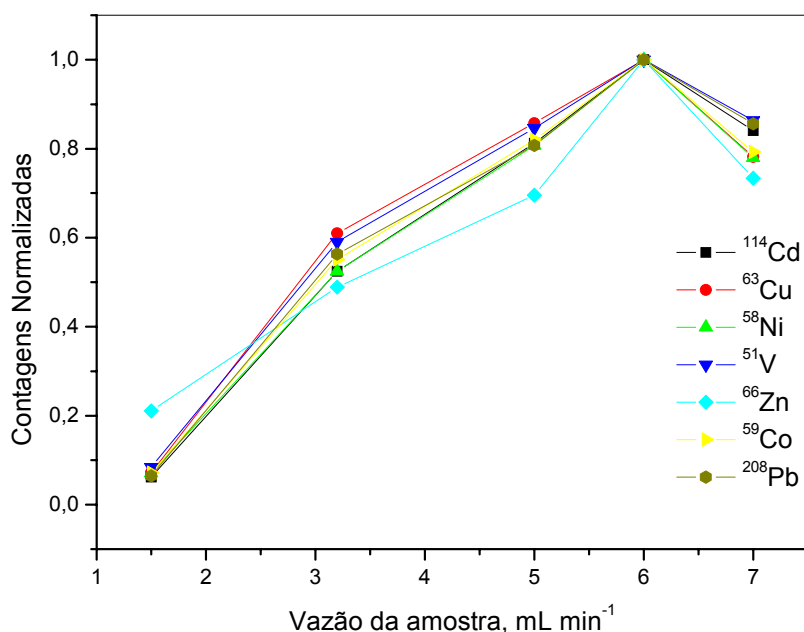


Figura 5.3 Estudo da vazão da amostra na adsorção simultânea de $3,0 \mu\text{g L}^{-1}$ de Cd, Cu, Ni, V, Co, Zn e Pb em 100 mg de $\text{Nb}_2\text{O}_5\text{-SiO}_2$ (volume de amostra 6,0 mL; pH da amostra 7; eluente HNO_3 $2,5 \text{ mol L}^{-1}$).

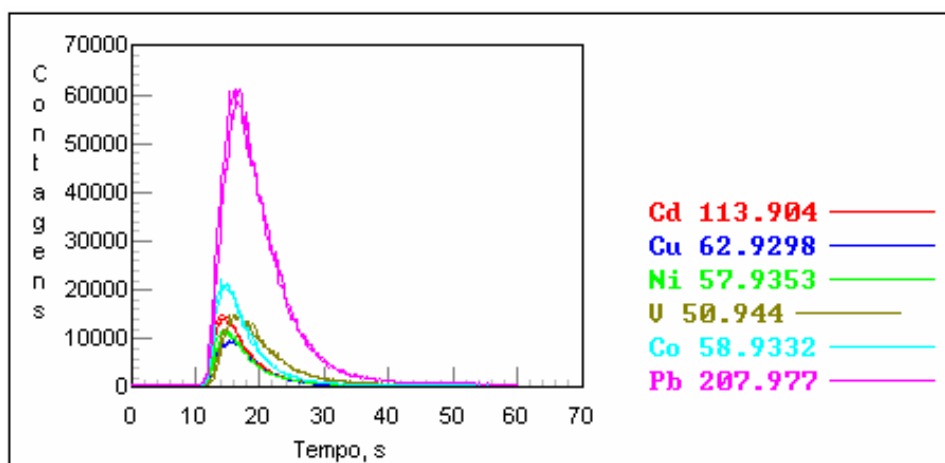


Figura 5.4 Formato dos picos dos analitos obtidos para a vazão da amostra de $6,0 \text{ mL min}^{-1}$.

5.1.4 Tempo de pré-concentração e tempo de limpeza

Como mostra a Figura 5.5, com o aumento do tempo de pré-concentração ocorre um aumento linear no sinal analítico, sendo a vazão da amostra constante. Com isso, os fatores de enriquecimento e limites de quantificação podem ser melhorados. Contudo, há diminuição da frequência analítica, com um maior consumo de amostra e reagentes. Por estas razões, o tempo de pré-concentração escolhido foi de 60 s.

O sistema FI proposto resulta na pré-concentração dos analitos, bem como na separação dos analitos da matriz da amostra. Assim, muitos dos problemas de interferências relatados na literatura podem ser reduzidos ou eliminados. Porém, resíduos da matriz da amostra, tais como Cl^- , Ca^{2+} , Na^+ , Mg^{2+} que não são adsorvidos na $\text{Nb}_2\text{O}_5\text{-SiO}_2$, podem estar presentes no volume "morto" da coluna e ser uma importante fonte de erros. Estes resíduos podem ser removidos pela limpeza da coluna com água deionizada antes da eluição ocorrer. Para remover completamente os resíduos da matriz da amostra foi realizado o estudo do tempo de limpeza, sendo este variado entre 5 e 35 s. O tempo de 10 s foi escolhido com uma vazão de $6,0 \text{ mL min}^{-1}$.

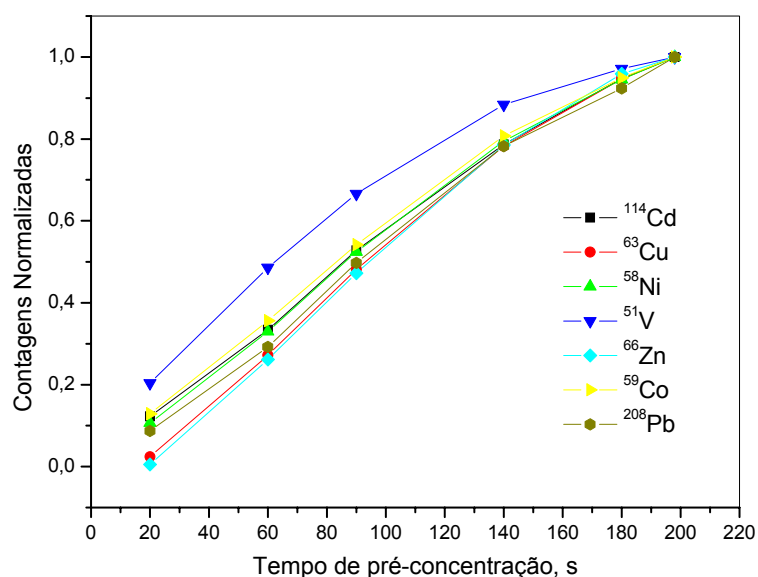


Figura 5.5 Estudo do tempo de pré-concentração na adsorção simultânea de $3,0 \mu\text{g L}^{-1}$ de Cd, Cu, Ni, V, Co, Zn e Pb em 100 mg de $\text{Nb}_2\text{O}_5\text{-SiO}_2$ (vazão da amostra $6,0 \text{ mL min}^{-1}$; pH da amostra 7; eluente HNO_3 $2,5 \text{ mol L}^{-1}$).

5.1.5 Estudo da saturação da coluna

Realizou-se um estudo da saturação do adsorvente com os íons Cd, Cu, Ni, V, Co, Zn e Pb conforme os parâmetros já otimizados. A pré-concentração foi realizada com 6,0 mL da solução de trabalho (60 s de pré-concentração) contendo todos os analitos ao mesmo tempo e variando-se a concentração dos analitos de $0,1$ a $125,0 \mu\text{g L}^{-1}$. A mini-coluna em estudo tornou-se saturada com solução com concentração de $100,0 \mu\text{g L}^{-1}$ de Cd, Cu, Ni, Co, Zn; em torno de $110,0 \mu\text{g L}^{-1}$ para V. Com a concentração de $150,0 \mu\text{g L}^{-1}$ para Pb, ainda não se havia saturado a coluna. Provavelmente, isto se deve ao fato de ocorrer uma maior afinidade do Pb pelos sítios ativos ou por algum efeito espacial que ele exerce sobre os outros analitos.

5.1.6 Parâmetros analíticos de mérito

Os dados do desempenho analítico do sistema de pré-concentração para Cd, Cu, Ni, V, Co, Zn e Pb estão resumidos na Tabela 5.1. A precisão do procedimento foi determinada, com uma solução multielementar de concentração igual a $3,0 \mu\text{g L}^{-1}$, utilizando-se os parâmetros previamente otimizados.

As curvas de calibração com pré-concentração e sem pré-concentração foram construídas para se obter a sensibilidade, faixa linear de trabalho e fator de enriquecimento (EF). O EF foi calculado através da razão das sensibilidades das curvas de calibração com e sem pré-concentração. A faixa linear de trabalho escolhida para o sistema com pré-concentração foi de $0,05$ a $25,0 \mu\text{g L}^{-1}$. O LOD foi calculado como sendo três vezes o desvio padrão de dez medidas consecutivas do branco dividido pela sensibilidade da curva de calibração. Verificou-se que o método proposto foi preciso, apresentando um RSD menor que $5,0 \%$ para todos analitos estudados ($3,0 \mu\text{g L}^{-1}$, $n = 7$). A frequência analítica foi de 28 amostras h^{-1} .

Tabela 5.1 Parâmetros analíticos obtidos para o sistema de pré-concentração estudado.

Isótopo	R	Inclinação, $\text{L } \mu\text{g}^{-1}$	EF	LOD $\mu\text{g L}^{-1}$	RSD*%
^{114}Cd	0,9997	182660	29	0,02	0,8
^{63}Cu	0,9999	160434	23	0,01	1,0
^{58}Ni	0,9999	177899	27	0,02	3,6
^{51}V	0,9997	233930	24	0,03	4,5
^{66}Zn	0,9993	45462	24	0,02	2,2
^{59}Co	0,9996	358326	28	0,03	3,2
^{208}Pb	0,9966	488680	37	0,01	4,1

5.1.7 Aplicação

Foram analisadas amostras de referência certificadas para a determinação da exatidão da metodologia. Os resultados foram concordantes com os valores certificados de acordo com o teste-t para um nível de confiança de 95 % e podem ser vistos na Tabela 5.2, demonstrando a boa exatidão da metodologia proposta.

Tabela 5.2 Concentrações obtidas para Cd, Cu, Ni, V, Zn, Co e Pb nas amostras de referência certificadas.

Analito		Amostra ($\mu\text{g L}^{-1}$)			
		SRM 1643e	CASS-4	NASS-4	NASS-5
Cd	Certificado	6,568 \pm 0,073	0,026 \pm 0,003	0,016 \pm 0,003	0,023 \pm 0,003
	Encontrado	6,492 \pm 0,065	< LOQ	< LOQ	< LOQ
Cu	Certificado	22,76 \pm 0,31	0,592 \pm 0,055	0,228 \pm 0,011	0,297 \pm 0,046
	Encontrado	23,02 \pm 0,25	0,612 \pm 0,048	0,235 \pm 0,009	0,305 \pm 0,051
Ni	Certificado	62,41 \pm 0,69	0,314 \pm 0,030	0,228 \pm 0,009	0,253 \pm 0,028
	Encontrado	62,97 \pm 0,55	0,320 \pm 0,020	0,232 \pm 0,011	0,261 \pm 0,020
V	Certificado	37,86 \pm 0,59	1,18 \pm 0,16	-	1.2*
	Encontrado	37,21 \pm 0,70	1,06 \pm 0,20	0,95 \pm 0,15	0,98 \pm 0,22
Zn	Certificado	78,5 \pm 2,2	0,381 \pm 0,057	0,115 \pm 0,018	0,102 \pm 0,39
	Encontrado	79,3 \pm 1,9	0,405 \pm 0,035	0,122 \pm 0,019	0,113 \pm 0,25
Co	Certificado	27,06 \pm 0,32	0,026 \pm 0,003	0,009 \pm 0,001	0,011 \pm 0,003
	Encontrado	26,92 \pm 0,27	< LOQ	< LOQ	< LOQ
Pb	Certificado	19,63 \pm 0,21	0,0098 \pm 0,0036	0,105 \pm 0,016	0,008 \pm 0,005
	Encontrado	19,50 \pm 0,30	< LOQ	0,099 \pm 0,013	< LOQ

*Valor apenas informado; (n = 3)

As amostras de água de consumo (Am 1), água do mar (Am 2, Am3) e as amostras de água coletadas em piezômetros (Am 4, Am 5, Am 6), do município de Florianópolis –Brasil foram submetidas ao processo de pré-concentração. Os valores podem ser observados nas Tabelas 5.3 e 5.4. Testes de recuperação também foram aplicados nas amostras e os valores obtidos ficaram entre 91 % e 112 %, estando dentro dos valores limites de recuperação aceitáveis.

Tabela 5.3 Análise das amostras de água (sistema de abastecimento e água do mar) mostrando as concentrações medidas, concentrações adicionadas e as recuperações.

Analito		Amostra ($\mu\text{g L}^{-1} \pm \text{sd}$)		
		Am 1	Am 2	Am 3
Cd	Medida	< LOQ	< LOQ	$0,07 \pm 0,01$
	Adicionada	0,30	0,30	0,30
	Encontrada*	$0,301 \pm 0,003$	$0,309 \pm 0,007$	$0,39 \pm 0,02$
	Recuperada	100,3 %	103 %	105,4 %
Cu	Medida	$5,0 \pm 0,10$	$0,92 \pm 0,09$	$1,52 \pm 0,12$
	Adicionada	0,30	0,30	0,30
	Encontrada*	$5,5 \pm 0,20$	1,29	$1,85 \pm 0,16$
	Recuperada	104 %	106 %	102 %
Ni	Medida	< LOD	$0,09 \pm 0,01$	$0,135 \pm 0,015$
	Adicionada	0,30	0,30	0,30
	Encontrada*	$0,28 \pm 0,01$	$0,36 \pm 0,04$	$0,431 \pm 0,011$
	Recuperada	93,3 %	92,3 %	99 %
V	Medida	< LOQ	< LOQ	$0,063 \pm 0,009$
	Adicionada	0,30	0,30	0,30
	Encontrada*	$0,29 \pm 0,02$	0,28	$0,354 \pm 0,007$
	Recuperada	96,6 %	93,3 %	97,5 %
Zn	Medida	$15,0 \pm 0,11$	$9,1 \pm 0,2$	$5,33 \pm 0,13$
	Adicionada	0,30	0,30	0,30
	Encontrada*	$15,7 \pm 0,21$	$9,45 \pm 0,15$	5,65
	Recuperada	102,6 %	100,5 %	100,3 %
Co	Medida	< LOQ	$0,11 \pm 0,05$	$0,08 \pm 0,01$
	Adicionada	0,30	0,30	0,30
	Encontrada*	$0,28 \pm 0,03$	$0,40 \pm 0,03$	$0,37 \pm 0,02$
	Recuperada	93,3 %	96,6 %	96,6 %
Pb	Medida	< LOQ	$0,05 \pm 0,01$	< LOQ
	Adicionada	0,30	0,30	0,30
	Encontrada*	$0,29 \pm 0,03$	0,32	$0,28 \pm 0,03$
	Recuperada	96,6 %	91,4 %	93,3 %

*Valor encontrado após a adição; sd = desvio padrão (n=3)

Tabela 5.4 Análise das amostras de água (coletadas em piezômetros) mostrando as concentrações medidas, concentrações adicionadas e as recuperações.

Analito		Amostra ($\mu\text{g L}^{-1} \pm \text{sd}$)		
		Am 4	Am 5	Am 6
Cd	Medida	0,25 \pm 0,030	< LOQ	0,103 \pm 0,014
	Adicionada	0,30	0,40	0,50
	Encontrada*	0,57 \pm 0,025	0,43 \pm 0,03	0,599 \pm 0,019
	Recuperada	107 %	107,5 %	99,2%
Cu	Medida	0,58 \pm 0,045	0,97 \pm 0,045	0,73 \pm 0,045
	Adicionada	0,30	0,40	0,50
	Encontrada*	0,89 \pm 0,033	1,40 \pm 0,09	1,29 \pm 0,08
	Recuperada	103,3 %	107,5 %	112 %
Ni	Medida	0,63 \pm 0,009	0,44 \pm 0,005	0,35 \pm 0,01
	Adicionada	0,30	0,40	0,50
	Encontrada*	0,92 \pm 0,008	0,81 \pm 0,02	0,83 \pm 0,007
	Recuperada	97 %	92,5 %	96%
V	Medida	0,60 \pm 0,015	0,090 \pm 0,004	0,120 \pm 0,018
	Adicionada	0,30	0,40	0,50
	Encontrada*	0,91 \pm 0,020	0,45 \pm 0,05	0,617 \pm 0,020
	Recuperada	103,3 %	90 %	99,4 %
Zn	Medida	18,9 \pm 0,51	13,2 \pm 0,2	10,5 \pm 0,1
	Adicionada	0,30	0,40	0,50
	Encontrada*	19,2 \pm 0,40	13,6 \pm 0,30	10,9 \pm 0,20
	Recuperada	100 %	100 %	80 %
Co	Medida	0,101 \pm 0,007	0,092 \pm 0,011	0,084 \pm 0,009
	Adicionada	0,30	0,40	0,50
	Encontrada*	0,393 \pm 0,010	0,45 \pm 0,030	0,589 \pm 0,013
	Recuperada	97,3 %	89,5 %	100 %
Pb	Medida	0,089 \pm 0,009	0,062 \pm 0,007	< LOQ
	Adicionada	0,30	0,40	0,50
	Encontrada*	0,383 \pm 0,011	0,450 \pm 0,008	0,49 \pm 0,011
	Recuperada	98,0 %	97 %	98 %

*Valor encontrado após a adição; sd = desvio padrão (n=3)

5.2 Uso de planejamento multivariado para otimização do sistema de pré-concentração e especiação de cromo com detecção por F AAS.

Nesta parte do trabalho o sorvente $\text{Nb}_2\text{O}_5\text{-SiO}_2$ foi usado visando o desenvolvimento de um procedimento para especiação de cromo. Inicialmente, todo o procedimento foi otimizado para a adsorção do Cr(III) , usando o método multivariado. Os seguintes parâmetros foram fixados: a pré-concentração foi realizada com 15,0 mL de uma solução contendo $100 \mu\text{g L}^{-1}$ de Cr(III) , o ácido nítrico foi selecionado como eluente e a massa de sorvente escolhida foi de 100 mg.

5.2.1 Planejamento fatorial completo

Para avaliar a influência dos fatores (vazão da amostra, vazão do eluente, concentração do eluente e pH da amostra) e suas interações no sistema de pré-concentração, um planejamento fatorial completo 2^4 com adição de um ponto central foi usado. Os níveis selecionados para os fatores estão definidos na Tabela 5.5 e a matriz requerida para os 17 experimentos do planejamento fatorial completo e o resultado, obtido em duplicata, está descrito na Tabela 5.6. A resposta analítica usada foi eficiência de sensibilidade (SE), que é definida como o sinal analítico de um sistema de pré-concentração em linha para um tempo de pré-concentração de 1 min [110]. A SE foi usada porque inclui o tempo de pré-concentração como um fator implícito na resposta analítica [66].

Tabela 5.5 Fatores e níveis usados no planejamento fatorial.

Fator	Mínimo (-)	Ponto central (0)	Máximo (+)
pH da amostra	3,0	6,0	9,0
Vazão da amostra (mL min ⁻¹)	3,3	5,6	7,8
Concentração do eluente (mol L ⁻¹)	1,0	2,0	3,0
Vazão do eluente (mL min ⁻¹)	3,3	4,5	5,6

Tabela 5.6 Matriz do planejamento fatorial completo e a resposta analítica na pré-concentração de Cr(III) no sistema proposto.

Experimento	Vazão da amostra (mL min ⁻¹)	Vazão do eluente (mL min ⁻¹)	Concentração do eluente (mol L ⁻¹)	pH da amostra	SE	
					Rep. 1	Rep. 2
1	-1	-1	-1	-1	0,0143	0,0147
2	1	-1	-1	-1	0,0314	0,0291
3	-1	1	-1	-1	0,0117	0,0120
4	1	1	-1	-1	0,0302	0,0302
5	-1	-1	1	-1	0,0133	0,0127
6	1	-1	1	-1	0,0280	0,0281
7	-1	1	1	-1	0,0112	0,0112
8	1	1	1	-1	0,0291	0,0280
9	-1	-1	-1	1	0,0272	0,0256
10	1	-1	-1	1	0,0521	0,0505
11	-1	1	-1	1	0,0230	0,0220
12	1	1	-1	1	0,0460	0,0436
13	-1	-1	1	1	0,0261	0,0263
14	1	-1	1	1	0,0559	0,0508
15	-1	1	1	1	0,0228	0,0232
16	1	1	1	1	0,0513	0,0555
17	0	0	0	0	0,0345	0,0334

Rep. = replicata

A importância dos efeitos foi checada pela análise de variância (ANOVA) e pelo nível de significância p-valores. Na Figura 5.6, o gráfico de Pareto ilustra as variáveis com os principais efeitos. Pode-se observar que as variáveis que apresentaram significância ($p > 0,05$) foram vazão da amostra (28,19), pH da amostra (21,95), vazão do eluente (-2,87), e a interação entre vazão e pH da amostra (6,32). A interação entre a concentração do eluente e pH da amostra (2,78) também foi estatisticamente significativa. Os valores positivos apresentados entre parênteses indicam que quando se passa do nível mínimo para o nível máximo destes fatores, ocorre um aumento na resposta analítica, e quanto maior o valor mais significativo é o fator.

A vazão do eluente apresentou uma pequena significância quando comparado com a vazão da amostra, além disso, o valor negativo indica que uma vazão do eluente menor deveria ser usada. Contudo, se a vazão do eluente for muito baixa, ocorre uma incompatibilidade com a taxa de aspiração do nebulizador do F AAS. Por isso, como um compromisso entre a vazão do eluente e a taxa de aspiração do sistema de nebulização do F AAS, a vazão do eluente de $4,5 \text{ mL min}^{-1}$ foi selecionada para estudos posteriores. A concentração do eluente não foi estatisticamente significativa. Já a interação entre a concentração do eluente e o pH da amostra foi significativa e com valor positivo. Assim, a concentração de $2,0 \text{ mol L}^{-1}$ foi selecionada. Além disto, este estudo indicou que a vazão e o pH da amostra necessitavam de uma otimização final.

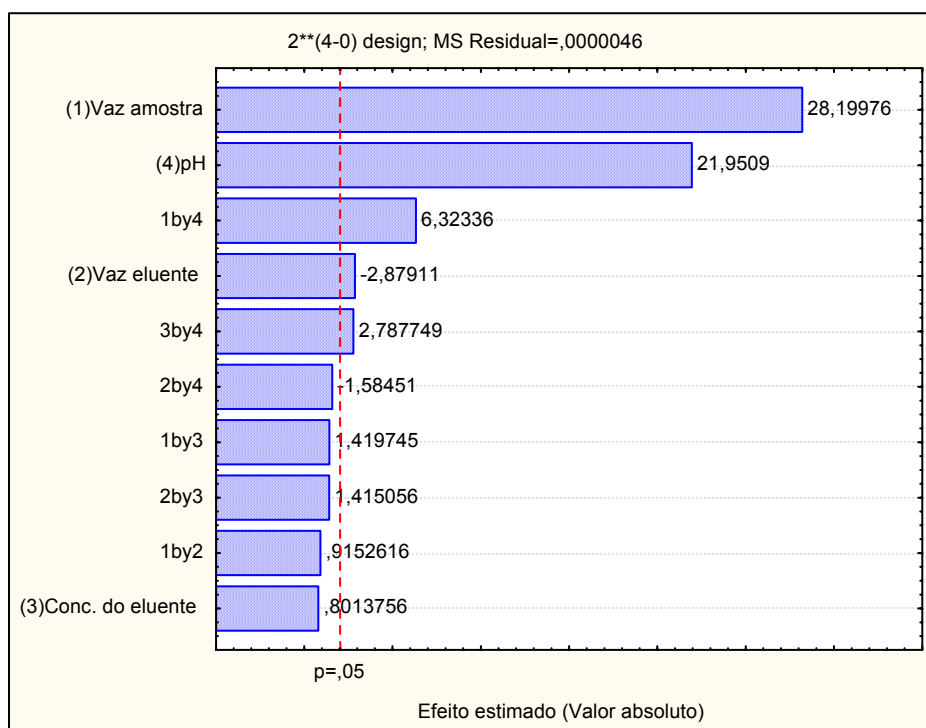


Figura 5.6 Gráfico de Pareto dos efeitos padronizados para as variáveis do sistema de pré-concentração de Cr(III), usando eficiência de sensibilidade como resposta.

5.2.2 Otimização usando planejamento Doehlert

O pH e a vazão da amostra mostraram-se significantes e foram otimizados usando planejamento Doehlert. Os 7 experimentos requeridos pelo planejamento Doehlert são mostrados na Tabela 5.7, bem como os resultados obtidos para cada experimento.

Tabela 5.7 Matriz Doehlert para otimização final da vazão da amostra e pH da amostra.

Experimento	pH da amostra	Vazão do amostra (mL min ⁻¹)	SE ^a
1	7,5	5,3	0,0420
2	6	5,8	0,0458
3	9	5,8	0,0432
4	7,5	6,3	0,0532
5	6	6,8	0,0405
6	9	6,8	0,0468
7	7,5	7,3	0,0518

^a média

A partir dos resultados dos experimentos da matriz Doehlert foi gerada a superfície de resposta e a superfície de contorno que pode ser vista nas Figuras 5.7 e 5.8, respectivamente. A superfície de resposta pode ser descrita pela equação quadrática (1):

$$SE = -0,239 + 0,03 \cdot pH + 0,054 \cdot vazão_{amostra} - 0,003 \cdot pH^2 + 0,003 \cdot pH \cdot vazão_{amostra} - 0,006 \cdot vazão_{amostra}^2 \quad (1)$$

O critério de Lagrange [106], foi aplicado na equação (1), com objetivo de localizar o ponto crítico da equação de segunda ordem, e o resultado demonstrou que:

$$H(pH_0, Vazão_0) = (-0,006) (-0,012) - (0,003)^2 = 6,3 \cdot 10^{-5} \quad (2)$$

$$\partial^2 SE / \partial pH^2 = -0,006 \quad (3)$$

$$\partial^2 SE / \partial vazão^2 = -0,012 \quad (4)$$

Os resultados para $H(pH_0, Vazão_0) > 0$ e $\partial^2 SE / \partial pH^2 < 0$ indicam que existe um máximo na superfície de resposta e pode ser calculado aplicando-se as derivadas parciais na equação (1), conforme as equações (5) e (6):

$$\partial SE / \partial pH = + 0,03 - 0,006 * pH + 0,003 * vazão_{amostra} = 0 \quad (5)$$

$$\partial SE / \partial vazão_{amostra} = + 0,054 + 0,003 * pH - 0,012 * vazão_{amostra} = 0 \quad (6)$$

Assim, os máximos foram calculados como sendo pH de 8,3 e vazão de amostra de 6,6 mL min⁻¹, estando os valores dentro do domínio experimental.

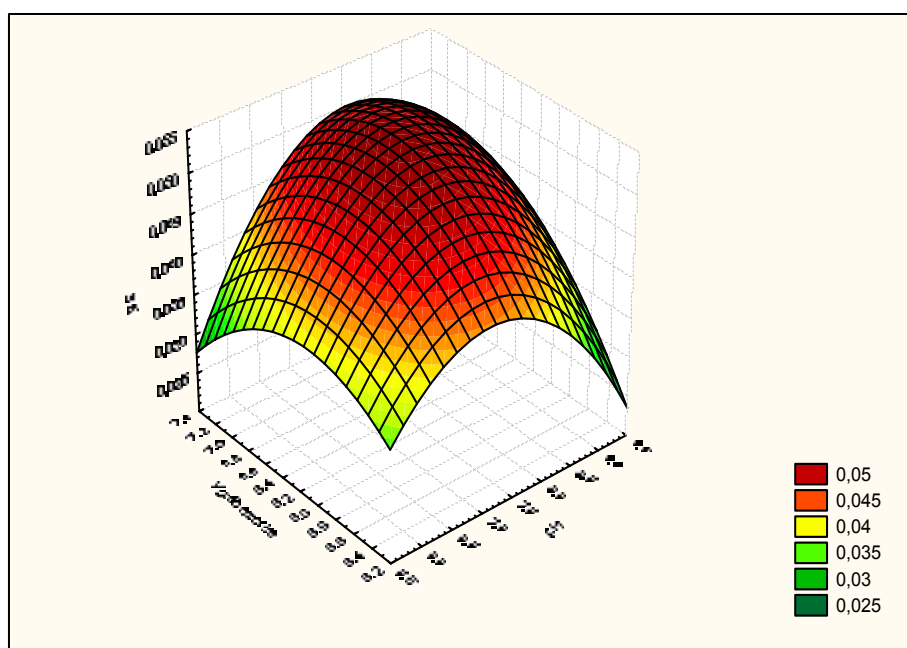


Figura 5.7 Superfície de resposta. (volume de amostra foi 15,0 mL contendo 100 µg L⁻¹ de Cr(III), concentração do eluente de 2,0 mol L⁻¹, vazão do eluente de 4,5 mL min⁻¹, massa de sorvente foi de 100 mg).

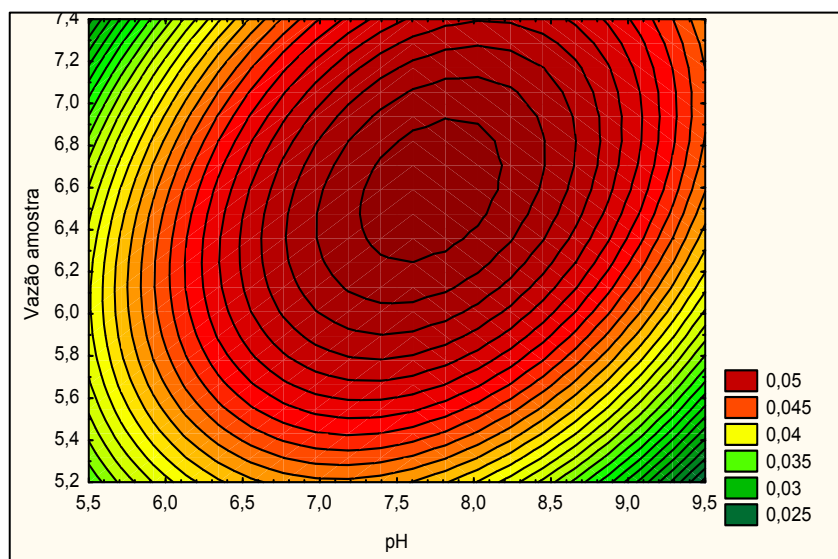


Figura 5.8 Superfície de contorno obtida na otimização final da vazão da amostra e pH da amostra.

As condições otimizadas para a adsorção do Cr(III) no sorvente Nb₂O₅-SiO₂ usando o planejamento fatorial e matriz Doehlert foram então concentração do eluente de 2,0 mol L⁻¹; vazão do eluente de 4,5 mL min⁻¹, vazão da amostra 6,6 mL min⁻¹ e pH igual a 8,0.

5.2.3 Otimização da redução do Cr(VI) usando planejamento Doehlert

Após a otimização do sistema de pré-concentração do Cr(III) foi realizado um estudo da variação do pH da amostra, em torno do pH ótimo obtido para o Cr(III), para verificar se o Cr(VI) poderia ser adsorvido no sorvente Nb₂O₅-SiO₂. Como era previsto, o Cr(VI) não é adsorvido e isso se deve ao fato de que o Nb₂O₅-SiO₂ é um trocador catiônico, pois o cromo hexavalente pode estar presente nas formas aniônicas de cromato (CrO₄²⁻), dicromato (Cr₂O₇²⁻) e hidrogeno cromato (HCrO₄⁻). Com isso, um estudo para a redução do Cr(VI) foi realizado usando planejamento Doehlert, tendo como fatores concentração do sulfito de sódio (agente redutor) e o tempo de redução. A concentração do redutor usada variou entre 30 e 90 μmol L⁻¹, e o tempo de redução variou entre

5 e 25 min. A Tabela 5.8 ilustra a matriz Doehlert com 7 experimentos requeridos pelo planejamento e os respectivos resultados. Os experimentos para otimização das condições de redução foram realizados e em seguida as amostras foram submetidas ao procedimento de pré-concentração previamente otimizado. Neste caso, a resposta analítica avaliada foi em altura de pico.

Tabela 5.8 Matriz Doehlert para otimização da concentração do agente redutor e o tempo da reação para a redução do Cr(VI).

Experimento	Tempo de reação (min)	Concentração do Na ₂ SO ₃ (μmol L ⁻¹)	Absorvância ^a
1	10	30	0,0459
2	5	60	0,0529
3	10	90	0,0783
4	20	90	0,0909
5	25	60	0,0809
6	20	30	0,0555
7	15	60	0,0744

^a média

A superfície de resposta obtida através da matriz Doehlert pode ser observada na Figura 5.9. A equação quadrática (eq. 7) que ilustra a relação entre o tempo de reação (TR), a concentração do redutor (CR) e a absorvância (Abs) está descrita a seguir:

$$\text{Abs} = -0,011 + 0,003 \cdot \text{TR} + 0,001 \cdot \text{CR} - 7,6 \cdot 10^{-5} \cdot \text{TR}^2 + 9,05 \cdot 10^{-6} \cdot \text{TR} \cdot \text{CR} - 6,204 \cdot 10^{-6} \cdot \text{CR}^2 \quad (7)$$

A aplicação do critério de Lagrange demonstra que existe um ponto crítico de máximo e valores máximos para CR e TR podem ser calculados pelas derivadas parciais da equação (7), conforme demonstrado nas equações (8) e (9):

$$\partial \text{Abs} / \partial \text{TR} = 0,003 - 15,27 \cdot 10^{-5} \cdot \text{TR} + 9,05 \cdot 10^{-6} \cdot \text{CR} = 0 \quad (8)$$

$$\partial \text{Abs} / \partial \text{CR} = 0,001 + 15,27 \cdot 10^{-5} \cdot \text{TR} + 9,05 \cdot 10^{-6} \cdot \text{CR} = 0 \quad (9)$$

$$\text{TR} = 26,5 \text{ e } \text{CR} = 99,4$$

Desta forma, os valores máximos foram calculados e selecionados para estudos posteriores como sendo $100 \mu\text{mol L}^{-1}$ e 26 min para a concentração do redutor e tempo de redução, respectivamente.

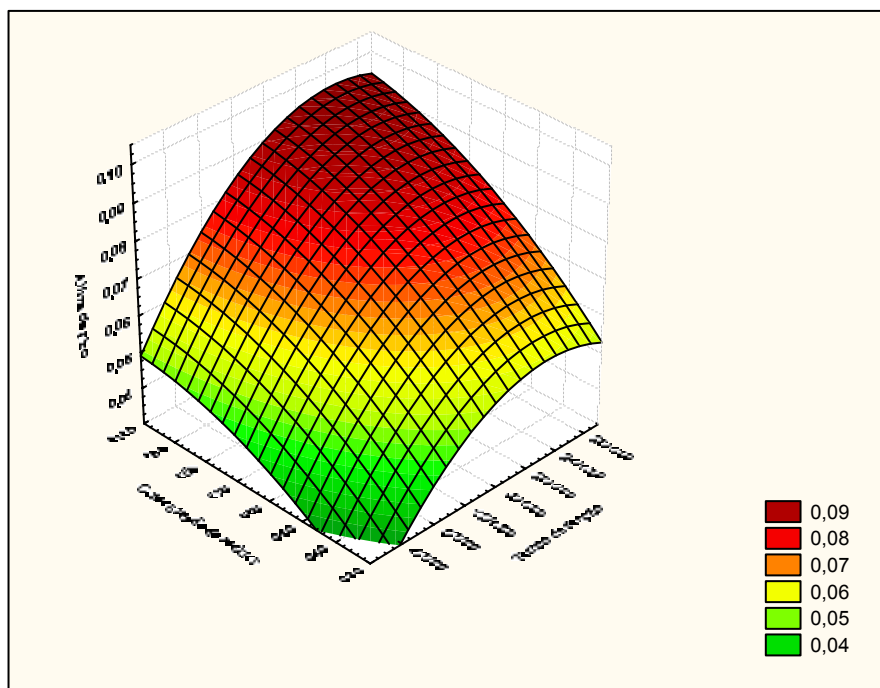


Figura 5.9 Superfície de resposta. (condições para pré-concentração: volume de amostra foi de 15,0 mL contendo $100 \mu\text{g L}^{-1}$ de Cr(VI); concentração do eluente de $2,0 \text{ mol L}^{-1}$; vazão do eluente de $4,5 \text{ mL min}^{-1}$; vazão da amostra $6,6 \text{ mL min}^{-1}$; pH de 8,0; massa de sorvente foi de 100 mg).

5.2.4 Estudo do tempo de pré-concentração

O efeito do tempo de pré-concentração sobre a retenção do Cr(III) foi avaliado na faixa entre 60 e 300 s, com uma vazão da amostra constante de 6,6 mL min⁻¹. Como pode ser visto na Figura 5.10, com o aumento do tempo de pré-concentração ocorre um aumento no sinal analítico. Embora o fator de enriquecimento e o limite de detecção do cromo possam ser melhorados usando maiores tempos de pré-concentração, o tempo de análise e o consumo de reagentes aumentam proporcionalmente. Por estas razões, o tempo de 120 s foi selecionado para estudos posteriores.

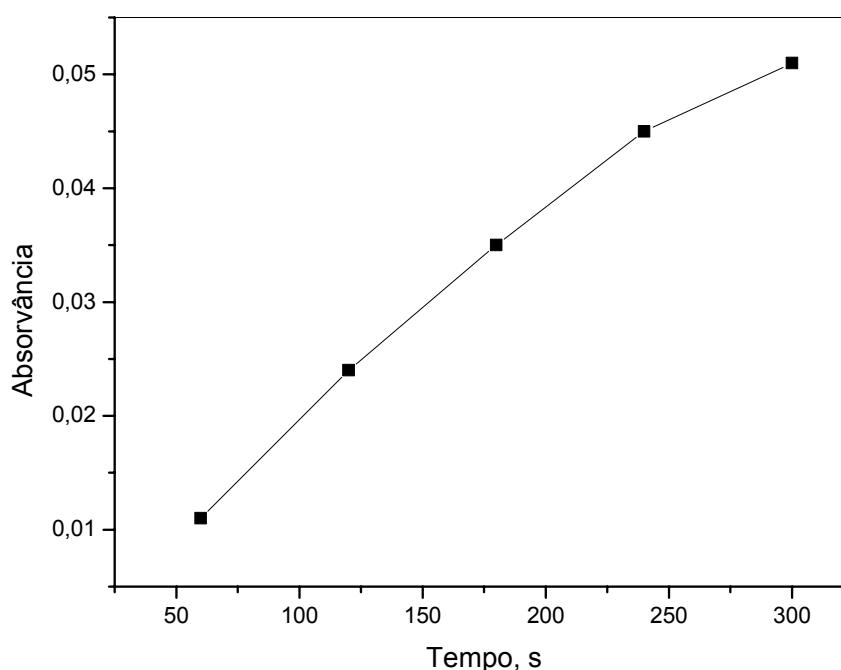


Figura 5.10 Efeito do tempo de pré-concentração na intensidade do sinal para o Cr. (Condições para pré-concentração: concentração de 30 µg L⁻¹ de Cr(III); concentração do eluente de 2,0 mol L⁻¹; vazão do eluente de 4,5 mL min⁻¹; vazão da amostra 6,6 mL min⁻¹; pH de 8,0; massa de sorvente foi de 100 mg).

5.2.5 Parâmetros analíticos de mérito

Os parâmetros analíticos de mérito, apresentados na Tabela 5.9, foram calculados utilizando as variáveis do sistema de pré-concentração otimizadas. O limite de detecção foi calculado como sendo a razão entre três vezes o desvio padrão de 10 medidas consecutivas do branco e a inclinação da curva de calibração, com pré-concentração. O fator de enriquecimento (EF) foi calculado como a razão dos coeficientes angulares das curvas de calibração, com e sem a pré-concentração do analito. Os valores de RSD foram obtidos pela pré-concentração de uma solução contendo $30 \mu\text{g L}^{-1}$ de Cr(III) e uma solução de contendo $30 \mu\text{g L}^{-1}$ de Cr(VI) (que foi submetida ao procedimento de redução em seguida ao de pré-concentração).

Tabela 5.9 Parâmetros analíticos de mérito.

Faixa linear de trabalho	$1,2 - 75,0 \mu\text{g L}^{-1}$
Coefficiente de correlação (R)	0,997
Desvio padrão relativo (RSD)	4,6 % para Cr(III)
($30 \mu\text{g L}^{-1}$, n = 7)	5,5 % para Cr(VI)
Inclinação	$0,0015 \text{ L } \mu\text{g}^{-1}$
Limite de detecção (LOD)	$0,34 \mu\text{g L}^{-1}$
Limite de quantificação (LOQ)	$1,2 \mu\text{g L}^{-1}$
Fator de enriquecimento (EF)	23
Frequência analítica*	15 amostras h^{-1}

* considerando apenas a etapa de pré-concentração

5.2.6 Aplicação do procedimento de especificação proposto

As amostras de água foram submetidas ao procedimento de pré-concentração e redução otimizado. As amostras foram enriquecidas e o teste de recuperação foi aplicado. A concentração de Cr(VI) foi calculada pela diferença entre a concentração de Cr total na amostra (amostra submetida ao procedimento de redução, seguido do procedimento de pré-concentração) e a

concentração de Cr(III) na amostra (amostra submetida apenas ao processo de pré-concentração). Os resultados podem ser observados na Tabela 5.10. As amostras analisadas apresentam as concentrações de cromo dentro do permitido pelo CONAMA para este tipo de amostra. Os valores de recuperação situaram-se entre 91 e 105 %. A exatidão também foi avaliada através da análise de material de referência certificado e os resultados estão apresentados na Tabela 5.11. A espécie de Cr encontrada nos materiais de referência certificados foi apenas a do Cr(III). Como pode ser visto, houve uma boa concordância entre os valores certificados e os valores encontrados, de acordo com o teste-t para um nível de confiança de 95 %.

Através dos resultados, pode-se observar que a metodologia proposta para especiação de cromo apresentou boa precisão e exatidão. O procedimento de redução do Cr(VI) é relativamente simples e rápido quando comparado com procedimentos da literatura, tal como a metodologia padrão [116], pois necessita apenas da adição do sulfito de sódio em meio ácido e um tempo de reação menor que 30 min.

Tabela 5.10 Concentrações de cromo obtidas nas amostras reais e nos testes de recuperação.

Amostra		Adicionado ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Encontrado ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Recuperação (%)
Córrego cromagem	Cr(III)	0	$9,8 \pm 1,0$	-
		30	$39,3 \pm 1,3$	98,3
	Cr(VI) ^a	0	$1,5 \pm 0,1$	-
		30	$28,1 \pm 2,0$	88,6
CASAN	Cr-total	0	$11,3 \pm 0,2$	-
		60	$67,4 \pm 1,5$	93,5
	Cr(III)	0	< LOQ	-
		20	$21,0 \pm 1,1$	105,0
	Cr(VI) ^a	0	< LOQ	-
		20	$18,2 \pm 1,8$	91,0
Poço artesiano	Cr-total	0	< LOQ	-
		40	$39,2 \pm 1,4$	98,0
	Cr(III)	0	< LOQ	-
		30	$31,1 \pm 0,7$	103,6
	Cr(VI) ^a	0	< LOQ	-
		30	$26,9 \pm 1,9$	89,6
	Cr-total	0	< LOQ	-
		60	$58,0 \pm 1,8$	96,6

^a Cr(total) – Cr (III) = Cr (VI)**Tabela 5.11** Concentrações de cromo total obtidas nos materiais de referência certificados submetidos ao procedimento de pré-concentração desenvolvido (n = 5).

Amostra	Certificado ^a ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Encontrado ^b ($\mu\text{g L}^{-1}$)
NIST 1643e	$20,40 \pm 0,24$	$20,10 \pm 0,40$
NIST 1640	$38,6 \pm 1,6$	$37,9 \pm 2,0$

^a valor certificado para Cr sem especificar a espécie, ^bCr total encontrado na forma de Cr(III) apenas.

5.3 Uso de sílica gel modificada com óxido de nióbio (V) em um sistema em linha para pré-concentração de chumbo com otimização multivariada e detecção por F AAS.

Testes preliminares foram realizados para verificar o comportamento da adsorção do Pb(II) no adsorvente $\text{SiO}_2\text{-Nb}_2\text{O}_5$. O pH 7 foi determinado em estudos preliminares e usado nesta etapa da otimização. O volume de amostra utilizado na otimização do experimento foi de 15 mL e concentração de $100 \mu\text{g L}^{-1}$ de Pb(II).

5.3.1 Planejamento fatorial completo

Os fatores escolhidos para o sistema de pré-concentração em linha foram a natureza do tampão, a concentração do eluente (HNO_3), a vazão da amostra e a vazão do eluente. A otimização do sistema em linha foi feita pelo método multivariado, usando planejamento fatorial completo em dois níveis 2^4 , totalizando 16 experimentos ($N = 2^k$, $k = 4$, onde: N = número de experimentos e k = fatores). Os experimentos foram realizados em duplicata. Na Tabela 5.12 estão dispostos os níveis mínimos e máximos selecionados para o experimento.

Tabela 5.12 Fatores e níveis usados no planejamento fatorial.

Fator	Mínimo (-)	Máximo (+)
Natureza do tampão	Citrato de Sódio	*TRIS
Vazão da amostra (mL min^{-1})	3,3	6,3
Concentração do eluente (mol L^{-1})	0,5	2,5
Vazão do eluente (mL min^{-1})	3,3	5,3

* Tris (hidroximetil) aminometano

Na Tabela 5.13 estão dispostos os experimentos e a média da resposta analítica, que foi obtida em absorvância integrada.

Tabela 5.13 Matriz do planejamento fatorial completo e a resposta analítica na pré-concentração de Pb(II) no sistema proposto.

Experimento	Vazão da amostra	Vazão do eluente	Concentração do eluente	Natureza do Tampão	Absorvância integrada	
	(mL min ⁻¹)	(mL min ⁻¹)	(mol L ⁻¹)		Rep. 1	Rep. 2
1	-1	-1	-1	-1	0,373	0,414
2	1	-1	-1	-1	0,419	0,415
3	-1	1	-1	-1	0,378	0,378
4	1	1	-1	-1	0,323	0,356
5	-1	-1	1	-1	0,475	0,477
6	1	-1	1	-1	0,456	0,470
7	-1	1	1	-1	0,398	0,384
8	1	1	1	-1	0,381	0,381
9	-1	-1	-1	1	0,196	0,180
10	1	-1	-1	1	0,188	0,195
11	-1	1	-1	1	0,149	0,156
12	1	1	-1	1	0,126	0,110
13	-1	-1	1	1	0,146	0,118
14	1	-1	1	1	0,126	0,135
15	-1	1	1	1	0,084	0,107
16	1	1	1	1	0,068	0,044

Rep. = replicata

A partir dos resultados obtidos e usando análise de variância (ANOVA) e probabilidade estatística ($p > 0,05$) foi construído o gráfico de Pareto para determinar a influência dos fatores e suas interações no sistema. A Figura 5.11 ilustra o gráfico de Pareto, onde são observadas as variáveis e suas significâncias. Como pode ser visto, os fatores natureza do tampão, vazão da amostra, vazão do eluente e a interação entre eles são estatisticamente significantes ($p > 0,05$). O valor negativo (-51,90) para o efeito da natureza do tampão da amostra, indica que o valor de absorvância integrada aumenta quando o tampão citrato de sódio é usado. Com isso, o citrato de sódio foi escolhido para estudos posteriores. Os valores negativos para a vazão da

amostra (-11,44) e vazão do eluente (-2,63) indicam que quando se passa do nível máximo para o nível mínimo destes fatores ocorre um aumento na resposta analítica. A concentração do eluente no intervalo estudado não foi estatisticamente significativa, sendo escolhida a concentração de $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ para estudos posteriores.

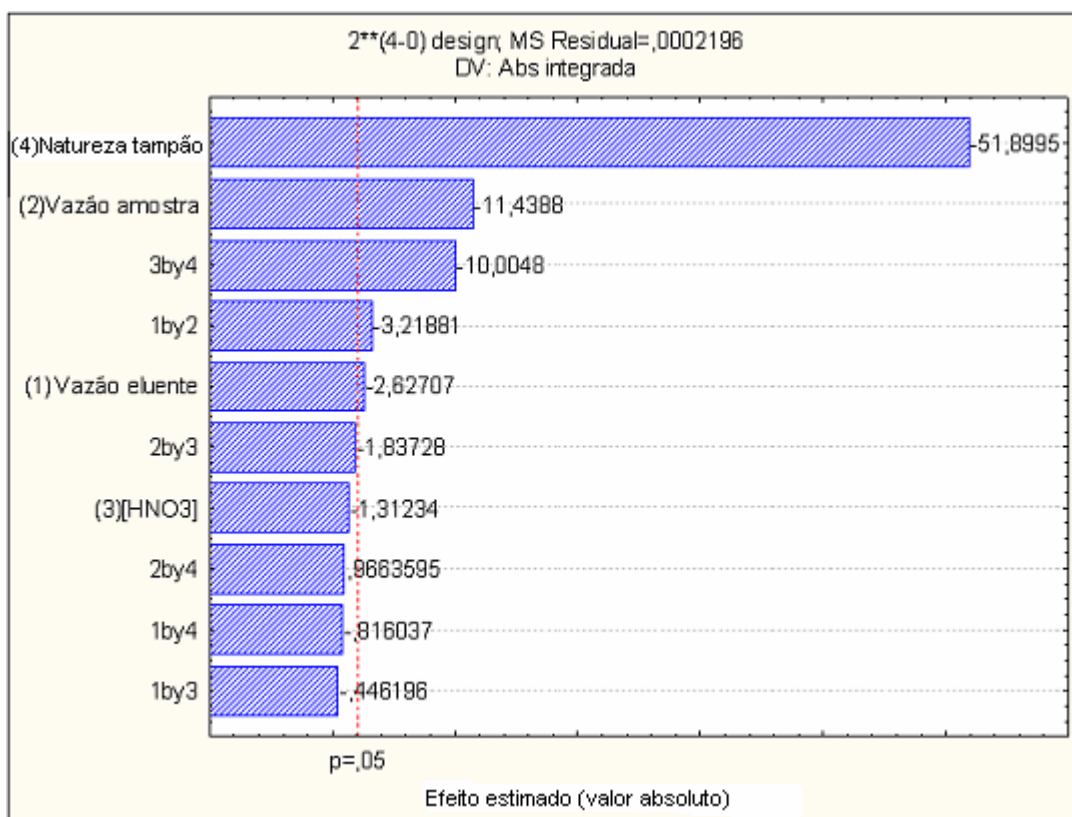


Figura 5.11 Gráfico de Pareto dos efeitos padronizados para as variáveis do sistema de pré-concentração de Pb(II), usando absorvância integrada como resposta.

5.3.2 Otimização usando planejamento Doehlert

Através dos resultados do planejamento fatorial, observou-se que a variável vazão da amostra e a variável vazão do eluente necessitavam de uma otimização final. Desta forma, foi desenvolvido um planejamento Doehlert envolvendo estas variáveis. Os 7 experimentos, feitos em duplicata, requeridos pela matriz Doehlert são mostrados na Tabela 5.14, onde se pode observar que a vazão da amostra variou de 3,3 a 6,3 mL min⁻¹ e a vazão do eluente variou de 3,3 a 5,3 mL min⁻¹.

Tabela 5.14 Matriz Doehlert para otimização final da vazão da amostra e vazão do eluente.

Experimento	Vazão do eluente (mL min ⁻¹)	Vazão da amostra (mL min ⁻¹)	Absorvância integrada ^a
1	4,3	3,3	0,239
2	3,3	4,1	0,258
3	3,3	5,6	0,246
4	4,3	6,3	0,246
5	5,3	5,6	0,257
6	5,3	4,1	0,273
7	4,3	4,8	0,267

^a média

A superfície de resposta e o gráfico da superfície de contorno originados da aplicação da matriz Doehlert são mostrados nas Figuras 5.12 e 5.13, respectivamente. A superfície de resposta pode ser descrita pela seguinte equação quadrática:

$$\begin{aligned} \text{Abs} = & -0,100 + 0,115 \cdot \text{VA} + 0,038 \cdot \text{VE} - 0,011 \cdot \text{VA}^2 \\ & - 0,001 \cdot \text{VA} \cdot \text{VE} - 0,003 \cdot \text{VE}^2 \end{aligned} \quad (1)$$

Onde Abs = absorvância, VA= vazão da amostra, VE = vazão do eluente.

A aplicação do critério de Lagrange, na equação (1), indica a presença de ponto um ponto crítico de máximo e aplicando as derivadas parciais em relação à vazão da amostra (VA), equação (2), e em relação à vazão do eluente (VE), equação (3), os valores máximos são:

$$\partial \text{Abs} / \partial V_A = 0,115 - 0,022 \cdot V_A - 0,001 \cdot V_E = 0 \quad (2)$$

$$\partial \text{Abs} / \partial V_E = 0,038 - 0,001 \cdot V_A - 0,006 \cdot V_E = 0 \quad (3)$$

$$\text{Vazão da amostra} = 5,0 \text{ mL min}^{-1}$$

$$\text{Vazão do eluente} = 5,5 \text{ mL min}^{-1}$$

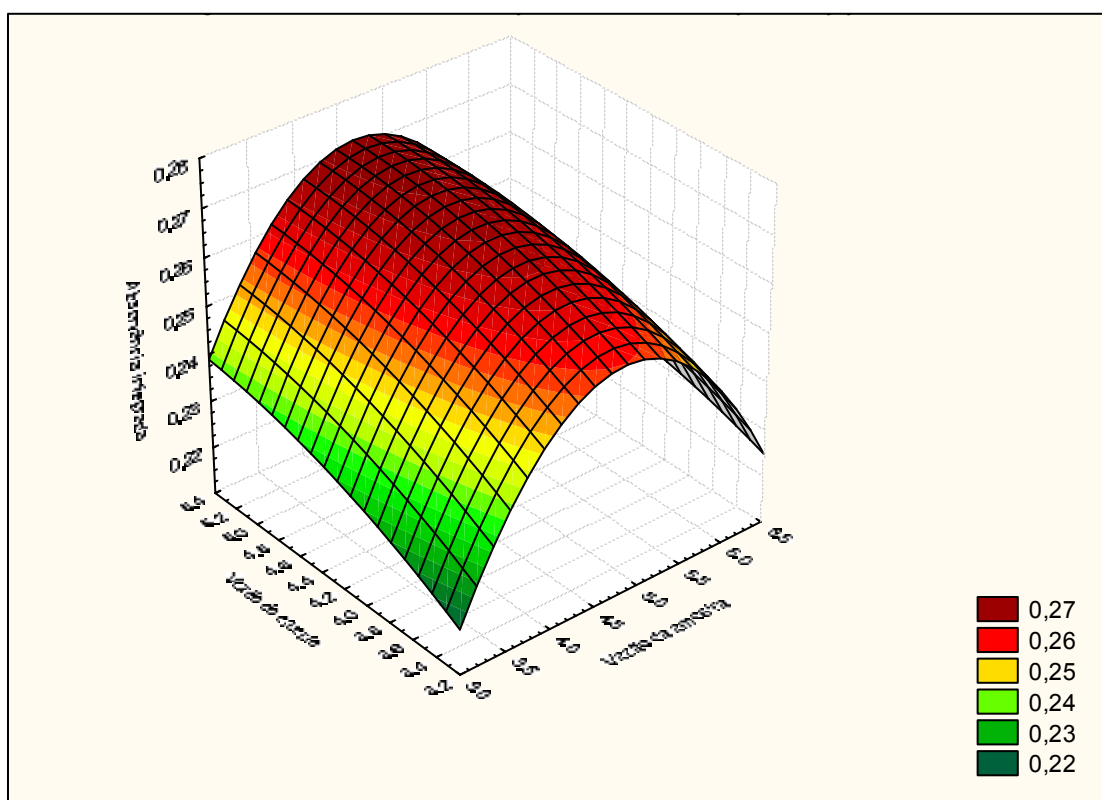


Figura 5.12 Superfície de resposta. (condições para pré-concentração: volume de amostra foi de 15,0 mL contendo $100 \mu\text{g L}^{-1}$ de Pb(II) em pH 7; tampão citrato de sódio; concentração do eluente de $0,5 \text{ mol L}^{-1}$; massa de sorvente foi de 100 mg)

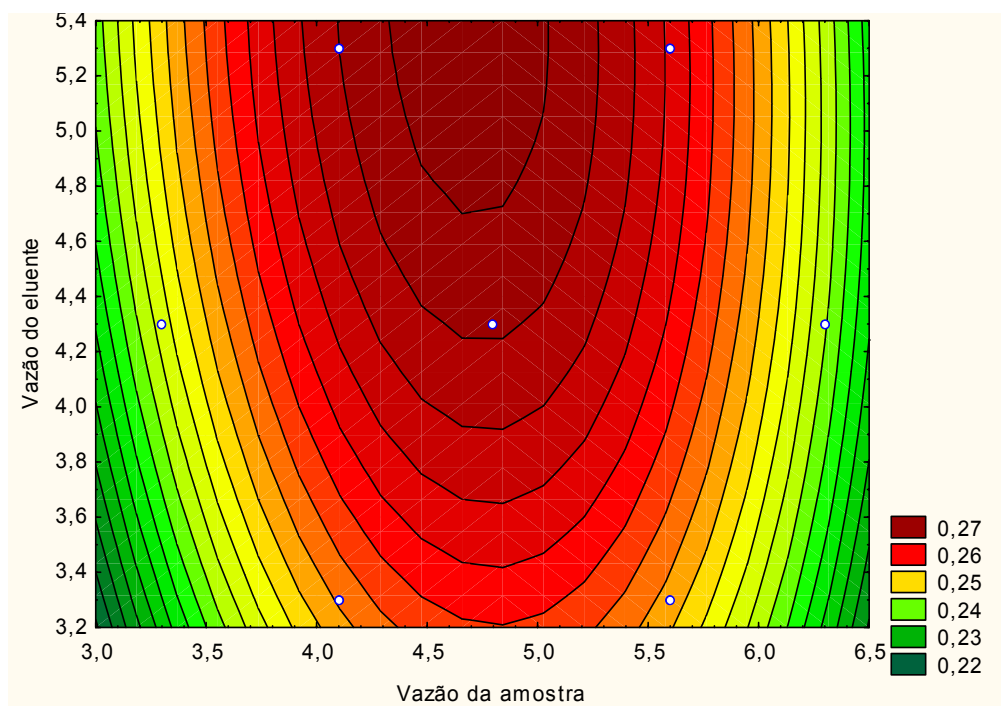


Figura 5.13 Superfície de contorno obtida na otimização final da vazão da amostra e vazão do eluente.

Como um resultado da otimização do sistema proposto, as seguintes condições de trabalho foram selecionadas: tampão citrato de sódio, $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ de HNO_3 como eluente, vazão da amostra de $5,0 \text{ mL min}^{-1}$ e vazão do eluente de $5,5 \text{ mL min}^{-1}$.

5.3.3 Estudo do efeito de íons concomitantes no procedimento proposto

O efeito dos íons Ca^{2+} , Mg^{2+} , Na^+ , K^+ , Zn^{2+} , Cu^{2+} , Fe^{3+} foi avaliado para verificar o potencial de interferências dos íons na adsorção de $100 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$ de chumbo, com as condições de pré-concentração previamente otimizadas. A sílica gel modificada com óxido de nióbio(V) apresenta característica de trocador catiônico e a competição entre os íons concomitantes e o chumbo depende da

concentração do cátion concomitante e do chumbo, da sua afinidade relativa pela superfície do sorvente e do número de sítios ativos disponíveis.

Em geral, o estudo do efeito de concomitantes é realizado adicionando-se na solução de trabalho uma concentração conhecida de um íon por vez, deste modo cada íon é avaliado separadamente. Este tipo de estudo é mais simples, porém não é representativo para uma situação real, na qual uma amostra pode conter vários íons ao mesmo tempo. Por este motivo, o estudo de interferente foi realizado utilizando um planejamento fatorial fracionário 2^{7-3} com a adição de um ponto central resultando em 17 experimentos.

Na Tabela 5.15 estão dispostos os níveis mínimo e máximo selecionados para cada íon considerado como fator neste experimento.

Tabela 5.15 Níveis e fatores usados no planejamento fatorial fracionário para avaliação dos íons interferentes.

Fator	Mínimo (-), mg L ⁻¹	Ponto central, mg L ⁻¹	Máximo (+), mg L ⁻¹
Ca ²⁺	0	2,5	5
Mg ²⁺	0	1,5	3
Na ⁺	0	2,5	5
K ⁺	0	1,5	3
Zn ²⁺	0	0,5	1
Cu ²⁺	0	0,5	1
Fe ³⁺	0	0,5	1

A Tabela 5.16 mostra a matriz do planejamento experimental com a resposta analítica em absorvância integrada.

Tabela 5.16 Matriz resultante do planejamento fatorial fracionário e a resposta analítica.

Experimento	Ca ²⁺	Mg ²⁺	Na ⁺	K ⁺	Zn ²⁺	Cu ²⁺	Fe ³⁺	Absorvância integrada
1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	0,5113
2	1	-1	-1	-1	1	-1	1	0,4947
3	-1	1	-1	-1	1	1	-1	0,4989
4	1	1	-1	-1	-1	1	1	0,5063
5	-1	-1	1	-1	1	1	1	0,5067
6	1	-1	1	-1	-1	1	-1	0,5085
7	-1	1	1	-1	-1	-1	1	0,4914
8	1	1	1	-1	1	-1	-1	0,4994
9	-1	-1	-1	1	-1	1	1	0,5050
10	1	-1	-1	1	1	1	-1	0,5185
11	-1	1	-1	1	1	-1	1	0,5094
12	1	1	-1	1	-1	-1	-1	0,5079
13	-1	-1	1	1	1	-1	-1	0,5201
14	1	-1	1	1	-1	-1	1	0,5200
15	-1	1	1	1	-1	1	-1	0,5264
16	1	1	1	1	1	1	1	0,5255
17	0	0	0	0	0	0	0	0,5241

A importância dos feitos foi checada pela análise de variância (ANOVA) e pelo nível de significância p-valores. Na Figura 5.14, o gráfico de Pareto mostra os íons e seus principais efeitos. Pode ser observado que nenhum íon concomitante apresentou significância ($p > 0,05$), ou seja, nenhum dos íons interferiu na adsorção do chumbo nos níveis estudados.

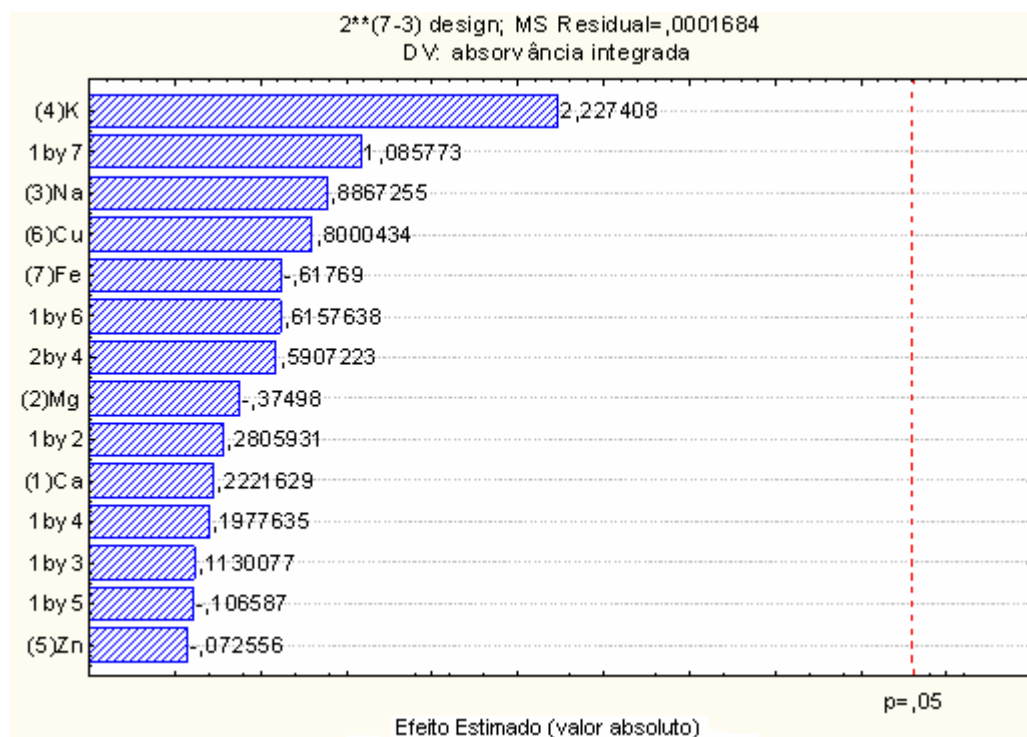


Figura 5.14 Gráfico de Pareto dos efeitos padronizados para o estudo dos íons interferentes no sistema de pré-concentração de chumbo, usando absorvância integrada como resposta.(Condições: pH da amostra, volume de amostra 15 mL; concentração de Pb de $100 \mu\text{g L}^{-1}$; $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ de HNO_3 como eluente; vazão da amostra de $5,0 \text{ mL min}^{-1}$ e vazão do eluente de $5,5 \text{ mL min}^{-1}$)

5.3.4 Estudo do volume de amostra

Usando as condições otimizadas, foi realizado um estudo do volume de amostra, para uma massa do analito constante ($1,0 \mu\text{g}$) e em volumes crescentes, ou seja, soluções menos concentradas. Como se observa na Figura 5.15, demonstrou-se que com o aumento do volume ocorre um aumento do sinal analítico na faixa de volume estudado de 20 a 120 mL. No volume de 100 mL ocorreu o sinal máximo, sendo que a detecção em amostras de baixa concentração do analito pode ser melhorada com o aumento do volume de amostra a ser pré-concentrado. Entretanto, esta estratégia leva a diminuição da

freqüência analítica. Com um compromisso entre a freqüência analítica e a absorvância integrada, o volume de 20 mL foi selecionado para estudos posteriores.

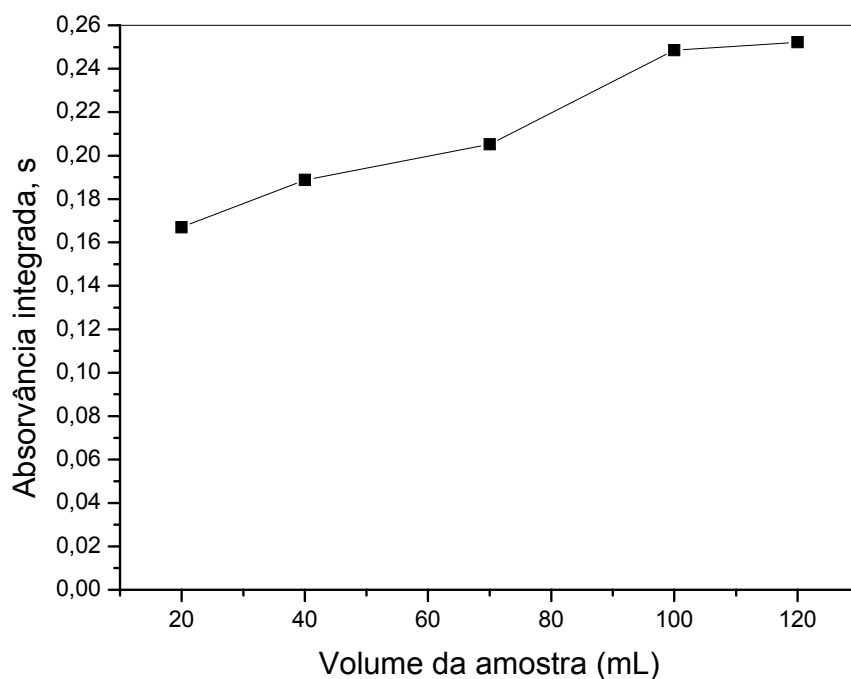


Figura 5.15 Gráfico do estudo do volume da amostra. (Condições usadas: pH = 7,0; massa do analito = 1,0 μg ; tampão = citrato de sódio; vazão da amostra = 5,1 mL min^{-1} ; vazão do eluente = 5,3 mL min^{-1} ; concentração do eluente = 0,5 mol L^{-1}).

5.3.5 Parâmetros analíticos de mérito

Os dados do desempenho analítico do sistema de pré-concentração para o chumbo estão dispostos na Tabela 5.17. A precisão do procedimento foi determinada submetendo 20 mL de solução de trabalho, com concentração 100 $\mu\text{g L}^{-1}$, ao sistema de pré-concentração, utilizando-se os parâmetros previamente otimizados. A curva de calibração com pré-concentração foi construída para se obter a sensibilidade, faixa linear de trabalho, fator de enriquecimento, limite de detecção e de quantificação. O limite de detecção foi

calculado como sendo três vezes o desvio padrão de dez medidas consecutivas do branco, submetido à pré-concentração, dividido pela sensibilidade. Através da razão das sensibilidades das curvas de calibração com e sem pré-concentração foi calculado o fator enriquecimento. Verificou-se que o método proposto foi preciso apresentando um RSD menor que 2,0 %.

Tabela 5.17 Parâmetros analíticos de mérito.

Faixa linear de trabalho ^a	5,0 – 120,0 $\mu\text{g L}^{-1}$
Coeficiente de correlação (R)	0,9982
Desvio padrão relativo (RSD)	1,6 %
(100 $\mu\text{g L}^{-1}$, n = 7)	
Inclinação	0,00411 L μg^{-1}
Limite de detecção (LOD)	0,35 $\mu\text{g L}^{-1}$
Limite de quantificação (LOQ)	1,20 $\mu\text{g L}^{-1}$
Fator de enriquecimento (EF)	46
Frequência analítica	12 amostras h ⁻¹

^a faixa linear usada

5.3.6 Análises de amostras ambientais e de materiais de referência certificados

O sistema em linha proposto foi utilizado para a determinação de chumbo em amostras de água da Carbonífera Criciúma (Criciúma, SC), água do mar e água de poço artesiano. Para verificar a exatidão do método, foram aplicados testes de recuperação, adicionando-se alíquotas conhecidas de Pb(II) nas amostras. A exatidão da metodologia foi verificada também através da análise de material de referência certificado. Os resultados podem ser observados na Tabela 5.18 e Tabela 5.19. As amostras de água analisadas apresentaram concentrações abaixo do permitido pelo CONAMA, estando dentro da legalidade.

As recuperações resultantes situaram-se entre 90 e 104 %, demonstrando a validade do método. Para a amostra certificada, houve boa concordância entre o valor certificado e o valor determinado, de acordo com o teste-t para um nível de confiança de 95 %

Tabela 5.18 Concentrações de Pb(II) obtidas nas amostras de água e nos testes de recuperação (média \pm sd, n=3).

Amostra	Adicionado ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Encontradoa ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Recuperação (%)
Água da mina	0	< LOQ	-
	30,0	$28,7 \pm 1,2$	96,0
	40,0	$41,5 \pm 2,0$	104,0
Água do mar	0	< LOQ	-
	5,0	$4,5 \pm 1,0$	90,0
	10,0	$9,6 \pm 1,1$	96
Água de poço	0	< LOQ	-
	5,0	$4,6 \pm 0,7$	92,0
	10,0	$9,9 \pm 0,9$	99,0

Tabela 5.19 Concentrações de Pb (II) obtidas nos materiais de referência certificados submetidos ao procedimento de pré-concentração desenvolvido (n = 5).

Amostra	Certificado	Encontrado
SRM 1643e	$19,63 \pm 0,21 \mu\text{g L}^{-1}$	$18,41 \pm 0,91 \mu\text{g L}^{-1}$
BCR397 (Human hair)	$33,0 \pm 1,2 \mu\text{g g}^{-1}$	$30,2 \pm 2,0 \mu\text{g L}^{-1}$

5.4 Uso de microextração com gota única para determinação de Pb(II) por GF AAS.

A otimização da metodologia proposta foi realizada usando o método univariado. Geralmente, em SDME o agente complexante é adicionado no solvente extrator. Neste trabalho o agente complexante (DDTP) foi adicionado na fase aquosa.

O critério de seleção do solvente para a micro-extração é similar aos critérios usados na extração líquido-líquido clássica, ou seja, o solvente extrator não deve ser dissolvido na solução aquosa e os analitos devem ter maior afinidade pela fase extratora do que pela fase aquosa. A incidência de perda da gota também é um ponto crítico. Por estas razões o clorofórmio foi selecionado como solvente extrator.

Inicialmente foi utilizada uma solução de trabalho contendo $25,0 \mu\text{g L}^{-1}$ de Pb(II) em HNO_3 0,1 % (v/v) e DDTP 0,1% (m/v); o volume de solvente extrator (CHCl_3) usado foi de $3,0 \mu\text{L}$ e o tempo de extração foi de 5 min.

5.4.1 Curvas de pirólise e atomização

O desenvolvimento da metodologia iniciou-se com a otimização do programa de temperatura do GF AAS. Para a otimização das temperaturas de pirólise e atomização, uma alíquota de $5,0 \text{ mL}$ de CHCl_3 foi adicionado a uma solução aquosa contendo $25 \mu\text{g L}^{-1}$ de Pb e 0,1% m/v de DDTP. Um procedimento convencional de LLE (agitação manual e centrifugação) foi realizado. Então, uma alíquota de $5 \mu\text{L}$ do extrato orgânico foi injetada manualmente no forno de grafite, resultando nas curvas mostradas na Figura 5.16.

Os primeiros experimentos foram realizados sem o uso de um modificador. Contudo, foi observada a ocorrência de infiltração do CHCl_3 nos poros da plataforma de grafite, resultando em uma baixa eficiência de

atomização. De fato, sobre estas condições, o sinal para o Pb foi detectado apenas em temperaturas de atomização maiores que 2000 °C e um efeito de memória considerável foi observado; assim, o uso de modificador foi requerido. Tungstênio se mostrou um modificador apropriado, devido as suas propriedades de formação de carbeto reduzindo a porosidade da superfície da plataforma, melhorando a eficiência de atomização.

Em temperaturas de pirólise abaixo de 500 °C, um elevado sinal de fundo foi detectado, possivelmente devido ao excesso de DDTP extraído pelo CHCl₃, vaporizado na etapa de atomização. Deste modo, uma significativa supressão de sinal foi gerada, resultando no perfil da curva de pirólise mostrada na Figura 5.16. Para superar este efeito, uma temperatura de pirólise de 700 °C foi selecionada, com um tempo de permanência de 5 s sendo suficiente para a eliminação do sinal de fundo. A temperatura de atomização também foi otimizada de maneira similar, como mostrado na Figura 5.16, e uma temperatura de atomização de 1700 °C foi selecionada como ótima. O programa de temperatura completo utilizado para a determinação do Pb no GF AAS pode ser visto na Tabela 4.4 (45).

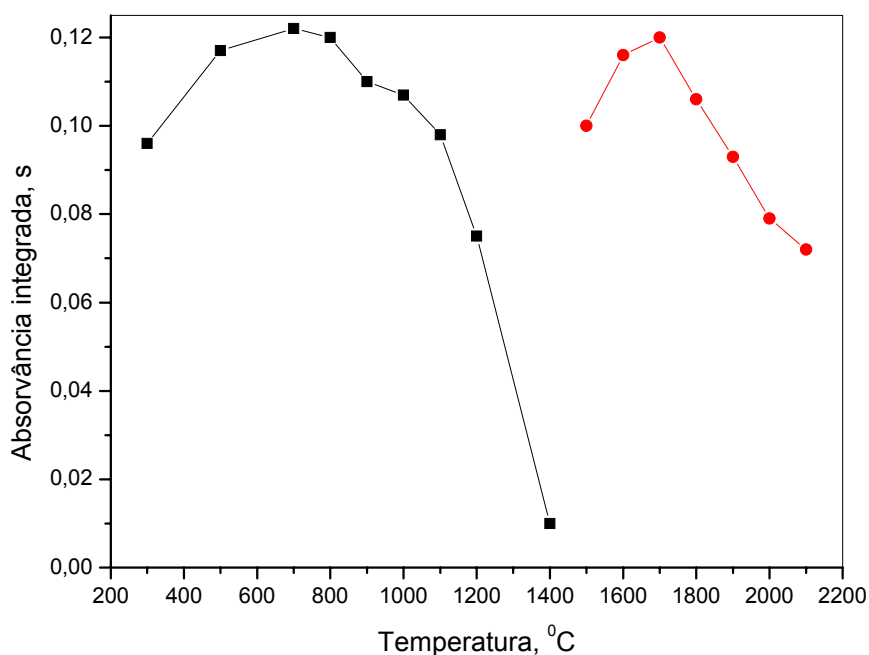


Figura 5.16 Curvas de pirólise e atomização para o Pb usando 400 µg de W como modificador permanente. Temperatura para de atomização para a curva de pirólise 1700 °C. Temperatura para de pirólise para a curva atomização de 700 °C. Pb foi extraído como um complexo de DDTP em CHCl₃ após LLE convencional (Condições: 25,0 µg L⁻¹ de Pb; 0,1 % (m/v) de DDTP; 0,1% (v/v) HNO₃, volume injetado 5,0 µL).

5.4.2 Efeito da concentração do DDTP

Vários fatores foram responsáveis pela escolha do DDTP como agente quelante, tais como a sua solubilidade em água, alta estabilidade em meio ácido, e alta constante de formação para complexação com Pb. Por causa da sua solubilidade, o DDTP foi adicionado à fase aquosa (soluções amostra e de calibração), levando à complexação do analito antes da extração. Esta sequência pode resultar em uma maior transferência de massa da fase aquosa para a gota extratora.

A influência da concentração do DDTP foi investigada na faixa de 0 a 0,01 % (m/v) e o resultado pode ser observado na Figura 5.17. Como a complexação ocorre em meio ácido, HNO₃ 0,1% v/v foi adicionado na solução

aquosa. Como pode ser visto na Figura 5.17, o sinal analítico aumenta intensamente com o aumento da concentração de DDTP até 0,001 % (m/v). Para concentrações de DDTP acima de 0,001 % (m/v), a sensibilidade permanece praticamente constante, mostrando que o excesso de DDTP não melhora a eficiência de extração ou transferência de massa. Contudo, também após a adição valores acima de 0,001 % não houve uma diminuição na transferência de massa.

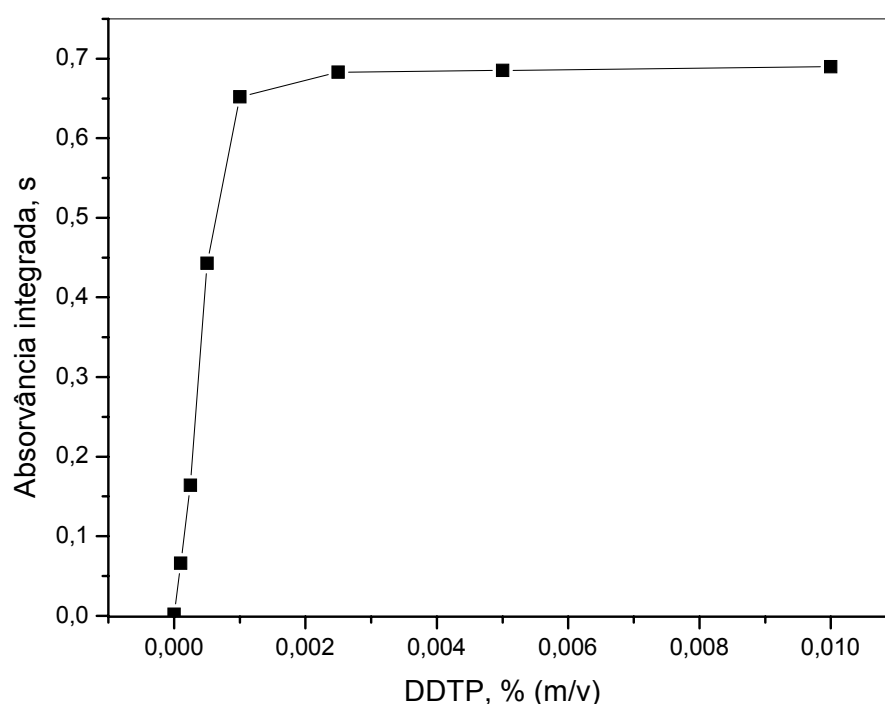


Figura 5.17 Efeito da concentração do DDTP no sinal analítico para o Pb usando SDME-GF AAS. Condições: volume de 2,0 mL de solução aquosa contendo $25,0 \mu\text{g L}^{-1}$ de Pb(II) em HNO_3 0,1 % (v/v); tempo de extração 5 min; volume da gota extratora $3,0 \mu\text{L}$; modificador permanente $400 \mu\text{g}$ de W.

Como esse estudo foi realizado usando solução aquosa simples, contendo apenas o Pb, em uma apreciável quantidade, um segundo estudo foi conduzido com uma solução contendo concomitantes. Este estudo teve por objetivo assegurar que o uso de DDTP em excesso e que complexações paralelas com íons concomitantes em solução não prejudicariam a eficiência de extração para o procedimento. Para este estudo específico, uma solução padrão multi-elementar, contendo 29 íons concomitantes com a concentração de $25 \mu\text{g L}^{-1}$ de cada íon, foi utilizada. Como pode ser visto na Figura 5.18, o perfil da curva obtida com uma solução multi-elementar é muito similar àquele obtido com a solução contendo apenas o Pb, demonstrando que uma concentração de DDTP de 0,01 % (m/v) é suficiente para manter uma alta eficiência de extração, mesmo na presença de íons concomitantes.

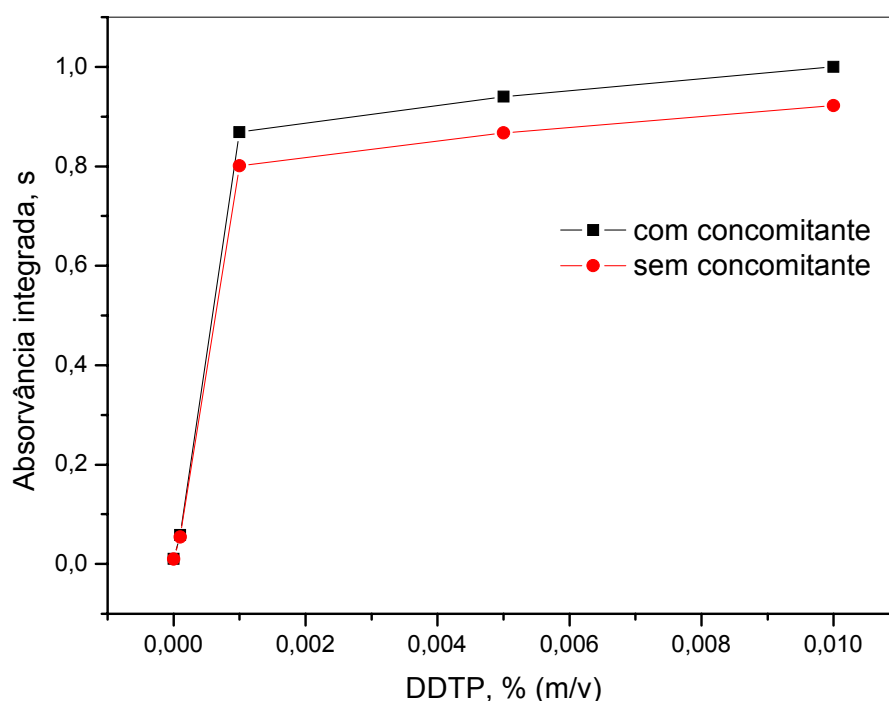


Figura 5.18 Efeito de íons concomitantes na intensidade do sinal para o Pb usando SDME-GF AAS. Condições: volume de 2,0 mL de solução aquosa contendo $25,0 \mu\text{g L}^{-1}$ de Pb(II) em HNO_3 0,1 % (v/v); tempo de extração 5 min; volume da gota extratora $3,0 \mu\text{L}$; modificador permanente $400 \mu\text{g}$ de W.

5.4.3 Estudo do volume da micro-gota e agitação da amostra

O volume da gota extratora apresenta um efeito essencial na eficiência de extração. Três diferentes volumes foram avaliados (1, 2 e 3 μL), sendo que o aumento do volume da gota aumenta a eficiência de extração, como pode ser visto na Figura 5.19. Entretanto, volumes maiores que 3 μL levam à perda de estabilidade, com o desprendimento da gota e menor reprodutibilidade. Assim, o volume de 3 μL foi confirmado para estudos posteriores.

A agitação da amostra exerce um importante papel no aumento da difusão dos analitos em direção a gota extratora, ou seja, a agitação da amostra diminui o tempo necessário para atingir o equilíbrio. Porém, o aumento na taxa de agitação promove a formação de bolhas de ar na gota, ocorrendo maior incidência de perdas da gota por desprendimento. Além disso, observa-se que o aumento na taxa de agitação leva a uma redução do volume da gota, devido ao aumento da dissolução do solvente extrator na fase aquosa. Agitação suave foi selecionada para estudos posteriores.

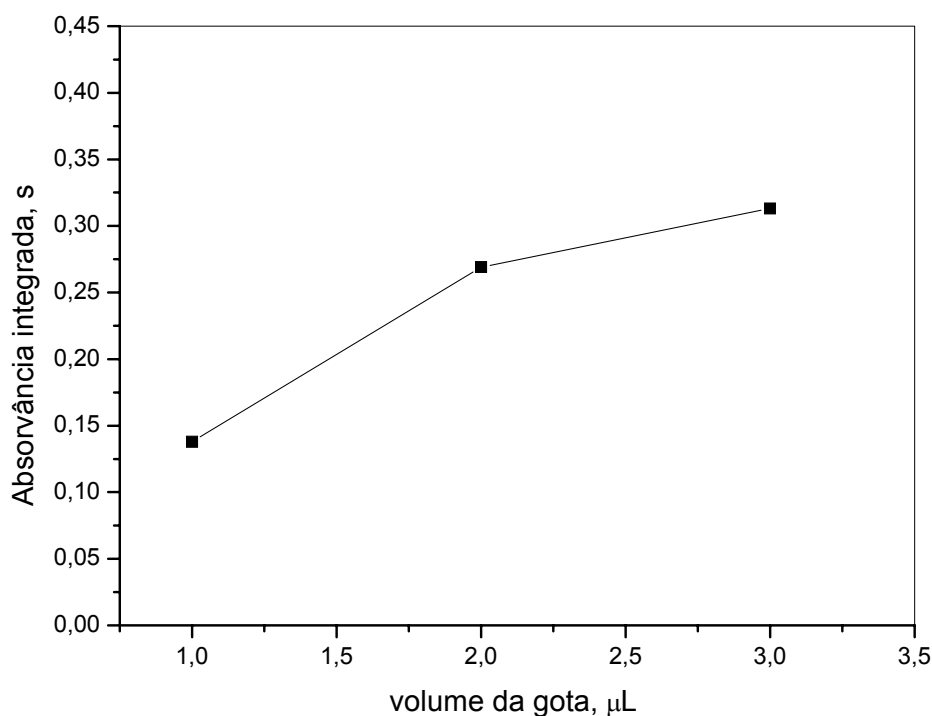


Figura 5.19 Efeito do volume da gota extratora na intensidade do sinal para o Pb (II). Condições: Volume de amostra 2,0 mL; $3,0 \mu\text{g L}^{-1}$ de Pb(II) em HNO_3 0,1 % (v/v); DDTP 0,01 % (m/v); tempo de extração 5 min; modificador permanente 400 μg de W.

5.4.4 Estudo do tempo de extração

O tempo de extração é um parâmetro importante em SDME e foi otimizado. Em geral, a transferência de massa é um processo dependente do tempo e a taxa de transferência é reduzida quando o sistema atinge o equilíbrio. Quando o equilíbrio é alcançado uma ótima repetibilidade de análise é obtida. Contudo, não é necessário que o equilíbrio seja alcançado desde que as condições de extração sejam reprodutíveis.

O tempo de extração foi avaliado variando-se o tempo de exposição da micro-gota de 0 a 10 min na solução de trabalho. O gráfico obtido pode ser visto na Figura 5.20. Observa-se que, com o aumento no tempo de extração, ocorre um aumento significativo no sinal analítico. O tempo de equilíbrio não foi

atingido na faixa estudada. Entretanto, tempos de extração maiores que 10 min podem levar ao fácil desprendimento da micro-gota por causa da formação de bolhas de ar e/ou por ação da força gravitacional [53, 54]. Com um compromisso entre o tempo de extração e frequência analítica, o tempo de 7 min foi selecionado para estudos posteriores.

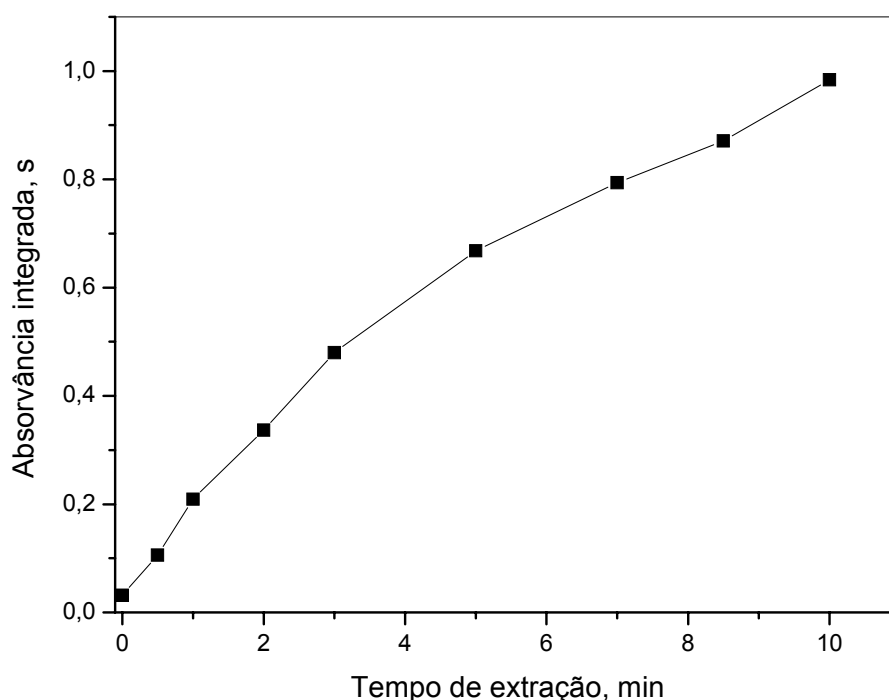


Figura 5.20 Efeito do tempo de extração na intensidade do sinal para o Pb. Condições: Volume de amostra 2,0 mL; $25,0 \mu\text{g L}^{-1}$ de Pb(II) em HNO_3 0,1 % (v/v); DDTP 0,01 % (m/v); volume da gota extratora $3,0 \mu\text{L}$; modificador permanente $400 \mu\text{g}$ de W.

5.4.5 Efeito da força iônica

A adição de uma substância iônica, tal como NaCl, no meio de extração, pode causar vários efeitos no processo de extração. Em teoria, o aumento da força iônica da solução amostra pode diminuir a solubilidade de espécies hidrofóbicas, tal como o complexo Pb-DDTP, no meio aquoso e com isso o processo de extração pode ser melhorado. Para avaliar este efeito, NaCl foi

adicionado na faixa de concentração de 0 a 2,0 mol L⁻¹ na solução aquosa contendo Pb e submetida ao processo de SDME. O resultado pode ser visto na Figura 5.20. Inicialmente, com o aumento da força iônica do meio (0,01 mol L⁻¹ de NaCl) houve um pequeno aumento no sinal analítico, possivelmente causado pelo aumento de transferência de massa da fase aquosa para a micro-gota extratora. Porém com a adição de maiores concentrações de NaCl, ocorreu uma diminuição considerável no sinal analítico. Para uma concentração de 0,5 mol L⁻¹ de NaCl, a intensidade do sinal foi reduzida cerca de 30 %. Uma explicação para este fato é que além do efeito *salting-out*, o NaCl pode mudar as propriedades físicas da difusão do analito para a micro-gota e, com o aumento da concentração do sal, a difusão do analito é cada vez mais dificultada.

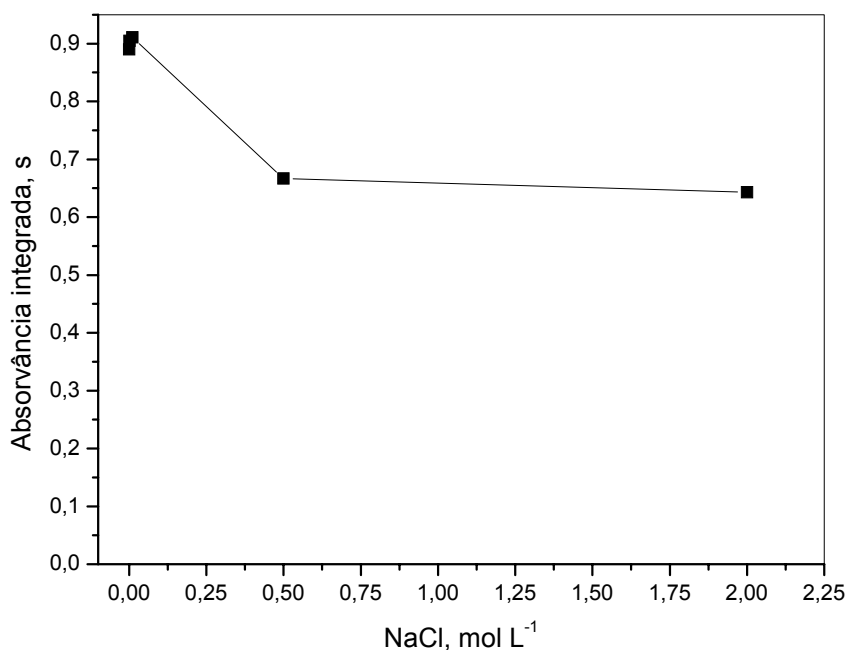


Figura 5.21 Efeito da força iônica na intensidade do sinal para o Pb. Condições: Volume de amostra 2,0 mL; 25,0 µg L⁻¹ de Pb em HNO₃ 0,1 % (v/v); DDTP 0,01 % (m/v); volume da gota extratora 3,0 µL; tempo de extração 7 min; modificador permanente 400 µg de W.

5.4.6 Parâmetros analíticos de mérito

Usando as condições otimizadas para o procedimento de SDME, os parâmetros analíticos de mérito foram obtidos. Na Tabela 5.20 podem ser vistos os resultados para a faixa linear de trabalho, coeficiente de correlação (R), limite de detecção (LOD), limite de quantificação (LOQ) e fator de enriquecimento. O LOD foi calculado como sendo igual a três vezes o desvio padrão de 10 medidas consecutivas do branco, submetido à pré-concentração, dividido pela inclinação da curva de calibração submetida ao procedimento de SDME.

A exatidão e aplicabilidade da metodologia proposta para extração de chumbo usando SDME foi feita mediante a análise de cinco materiais de referência certificados. Como mostra os resultados da Tabela 5.21, houve uma boa concordância entre os valores certificados e os valores obtidos para um nível de confiança de 95 %. O LOD da metodologia proposta foi baixo, o que demonstra a alta sensibilidade do método.

Tabela 5.20 Parâmetros analíticos de mérito para procedimento proposto de SDME-GF AAS.

Faixa linear de trabalho ^a	1,0 – 15,0 µg L ⁻¹
Coeficiente de correlação (R)	0,9984
Inclinação	0,0360 L µg ⁻¹
Limite de detecção (LOD)	0,30 µg L ⁻¹
Limite de quantificação (LOQ)	1,0 µg L ⁻¹
Fator de enriquecimento (EF)	11
Frequência analítica	7 amostras h ⁻¹

^afaixa linear usada

Tabela 5.21 Resultados obtidos para a determinação de Pb (II) nos materiais de referência certificados usando SDME-GFAAS com tungstênio como modificador (n=3)

Amostra	Certificado	Encontrado^a
NIST 1643e (água)	$19,63 \pm 0,21 \mu\text{g L}^{-1}$	$20,82 \pm 0,10 \mu\text{g L}^{-1}$
NIST 1640 (água)	$27,89 \pm 0,14 \mu\text{g L}^{-1}$	$29,49 \pm 3,20 \mu\text{g L}^{-1}$
NIST 1575 (acícula de pinheiro)	$10,08 \pm 0,50 \mu\text{g g}^{-1}$	$12,0 \pm 0,2 \mu\text{g g}^{-1}$
SOIL-7 (solo)	$60 (55-71) \mu\text{g g}^{-1}$	$51,0 \pm 6,5 \mu\text{g g}^{-1}$
STDS-2 (sedimento)	$66 \mu\text{g g}^{-1}$	$68,5 \pm 4,5 \mu\text{g g}^{-1}$

5.5 Comparação dos resultados obtidos pelas diferentes metodologias desenvolvidas para a determinação de chumbo.

Uma comparação dos parâmetros analíticos obtidos para o chumbo usando as diferentes metodologias pode ser vista na Tabela 5.22. Como era previsto, a capacidade de detecção do sistema SPE-ICP-MS foi melhor que SPE-F ASS e SDME-GF AAS. O valor do LOD para o sistema de pré-concentração SPE-ICP-MS foi uma ordem de magnitude menor e apresentou maior frequência analítica. Além disso, a metodologia é multi-elementar aumentando ainda mais sua vantagem.

Os resultados de LOD obtidos para as metodologias usando SPE-F AAS e SDME-GF AAS foram semelhantes. Contudo, a SPE-F AAS apresentou como vantagem a maior frequência analítica e maior faixa linear de trabalho. Para SDME-GF AAS a maior vantagem foi à simplicidade no procedimento de preparo da amostra.

Tabela 5.22 Comparação dos parâmetros analíticos obtido para o chumbo usando as diferentes metodologias desenvolvidas.

Parâmetro	Técnica		
	SPE-ICP-MS	SPE-F AAS	SDME-GF AAS
Faixa linear de trabalho ($\mu\text{g L}^{-1}$)	0,05 - 25,0	1,2 - 120,0	1,0 -15,0
LOD ($\mu\text{g L}^{-1}$)	0,010	0,35	0,30
LOQ ($\mu\text{g L}^{-1}$)	0,035	1,2	1,0
EF	37	46	11
Frequência analítica (amostras h^{-1})	28	12	7

Capítulo 6

Conclusão

A aplicação da sílica gel modificada com óxido de nióbio(V) em sistema em linha acoplado ao ICP-MS foi bem sucedida, permitindo a pré-concentração multielementar de cádmio, cobre, cobalto, níquel, vanádio e chumbo, presentes em amostras ambientais, com limites de detecção na ordem de partes por trilhão. Apesar do ICP-MS ser um equipamento de alto custo, a alta frequência analítica alcançada e a determinação simultânea dos sete elementos pela metodologia proposta permite a determinação rotineira, apresentando boa relação custo/benefício.

A sílica gel modificada com óxido de nióbio(V) proporcionou também a pré-concentração de Cr(III) e com isso, o desenvolvimento de metodologia para especiação de cromo em amostras de água, com detecção por F AAS. A aplicação de planejamento fatorial completo e planejamento Doehlert para otimização do sistema em linha e das condições de redução do Cr(VI) demonstrou ser eficiente, tendo como vantagem o número reduzido de experimentos necessários para a otimização do procedimento. Uma das desvantagens deste tipo de otimização é a maior dificuldade na interpretação dos dados em relação ao procedimento de univariado.

A aplicação da sílica gel modificada com óxido de nióbio(V) em sistema em linha para a pré-concentração e extração de chumbo e detecção por F AAS proporcionou um meio conveniente e rápido para a pré-concentração e separação do analito em questão, em um simples ciclo analítico. O LOD obtido foi suficiente para a determinação do chumbo em amostras de água conforme os limites exigidos pelo CONAMA. As ferramentas quimiométricas usadas na otimização do sistema foram adequadas, principalmente no que diz respeito ao estudo de interferentes, no qual o número de experimentos foi bem reduzido;

por permitir avaliar todos os concomitantes ao mesmo tempo, o que inclusive, é analiticamente mais informativo.

Nos três casos descritos acima, a sílica gel modificada com óxido de nióbio(V) foi aplicada com êxito no desenvolvimento das metodologias, não apresentando problemas de intumescimento e a estabilidade do sorvente foi adequada, com tempos de vida útil superior ao tempo de realização de cada trabalho (cerca de 200 aplicações em cada trabalho).

O uso da microextração com gota única possibilitou o desenvolvimento de uma metodologia de extração e pré-concentração de chumbo em amostras ambientais com detecção por GF AAS. As principais vantagens desta técnica foram a simplicidade, baixo custo do sistema de extração e por ser uma metodologia praticamente livre de solvente.

De um modo geral, todas as metodologias desenvolvidas neste trabalho apresentaram rapidez analítica, com boa precisão e exatidão.

Referências Bibliográficas

- [1] M.R.M.P. De Aguiar, A.C. Novaes, A.W.S. Guarino, **Remoção de metais pesados de efluentes industriais por aluminossilicatos.** Quim. Nova 25 (2002) 1145-1154.
- [2] J.C. Rocha, A.H. Rosa, A. A. Cardoso, **Introdução a química ambiental.** Bookman, Porto Alegre, (2005) 37,
- [3] M.L.A.M. Campos, A. Bendo, F.C. Viel, **Métodos de baixo custo para purificação de reagentes e controle da contaminação para a determinação de metais traços em águas naturais.** Quim. Nova 25 (2002) 808-813.
- [4] E. Gonzalez-Toledo, M.D. Prat, M.F. Alpendurada, **Solid-phase microextraction coupled to liquid chromatography for the analysis of phenolic compounds in water.** J. Chromatog. A 923 (2001) 45–52.
- [5] A.A. Olajire, R. Altenburger, E. Kqster, W. Brack, **Chemical and ecotoxicological assessment of polycyclic aromatic hydrocarbon—contaminated sediments of the Niger Delta, Southern Nigeria.** Science of the Total Environment 340 (2005) 123– 136.
- [6] I. Arambarri, M. Lasa, R. Garcia, E. Millán, **Determination of fuel dialkyl ethers and BTEX in water using headspace solid-phase microextraction and gaschromatography–flame ionization detection.** J. Chromatog. A, 1033 (2004) 193–203.
- [7] M. Polo, M. Llompart, C. Garcia-Jares, R. Cela, **Multivariate optimization of a solid-phase microextraction method for the analysis of phthalate esters in environmental waters.** J.Chromatog. A, 1072 (2005) 63–72.
- [8] M. Moldovan, M. M. Gómez., M. A.Palacios, **On-line preconcentration of palladium on alumina microcolumns and determination in urban waters by inductively coupled plasma mass spectrometry.** Anal. Chim. Acta 478 (2003) 209–217.

- [9] E.L. da Silva, E.M. Ganzarolli, E. Carasek, **Use of Nb₂O₅–SiO₂ in an automated on-line preconcentration system for determination of copper and cadmium by FAAS.** Talanta 62 (2004) 727-733.
- [10] M. F. Molina, M. Nechar, J. M. Bosque-Sendra, **Determination of Zinc in environmental samples by solid phase spectrophotometry: optimization and validation study** Analytical Sciences 14 (1998) 791-797.
- [11] V. Camel, **Solid phase extraction of trace elements - Review** Spectrochimica Acta Part B 58 (2003) 1177–1233.
- [12] W. Wardencki, J. Curyo, J. Namiećnik, **Trends in solventless sample preparation techniques for environmental analysis,** J. Biochem. Biophys. Methods (2006) no prelo.
- [13] E. Zhao, L. Han, S. Jiang, Q. Wang, Z. Zhou, **Application of a single-drop microextraction for the analysis of organophosphorus pesticides in juice,** Journal of Chromatography A, 1114 (2006) 269–273.
- [14] E. Carasek, **A low-cost flame atomic absorption spectrometry method for determination of trace metals in aqueous samples,** Talanta 51 (2000) 173–178.
- [15] J. Wang, E. H. Hansen, B. Gammelgaard, **Flow injection on-line dilution for multi-element determination in human urine with detection by inductively coupled plasma mass spectrometry.** Talanta 55 (2001) 117–126.
- [16] H.F. Maltez **Desenvolvimento de metodologia em sistema em fluxo para especiação e determinação de cromo em água usando sílica gel modificada e espectrometria de absorção atômica em chama.** Dissertação de Mestrado em Química- Departamento de Pós-graduação em Química – UFSC 2002.
- [17] B. Welz, M. Sperling, **Atomic Absorption Spectrometry.** 3rd ed., Wiley-VCH, Alemanha, 1999.

- [18] M. H. A. Melo, S. L. C. Ferreira, R. E. Santelli, **Determination of cadmium by F AAS after on-line enrichment using mini column packed with Amberlite XAD-2 loaded with TAM.** Microchem. J. 65 (2000) 59-65.
- [19] **Guias para la calidad del agua potable.** Segunda edición. Addendum al volumen 1. Recomendaciones. OMS, Genebra 1999.
- [20] S.L.C Ferreira, J.R. Ferreira, A.F. Dantas, V.A. Lemos, N.M.L Araújo, A.C.S. Costa, **Copper determination in natural water samples by using F AAS after preconcentration onto Amberlite XAD-2 loaded with calmagite.** Talanta 50 (2000) 1253-1259.
- [21] M.G. Korn, J.B. de Andrade, D.S. de Jesus, V.A. Lemos, M.L.S.F. Bandeira, W.N.L. dos Santos, M.A. Bezerra, F.A.C. Amorim, A.S. Souza, S.L.C. Ferreira. **Separation and preconcentration procedures for the determination of lead using spectrometric techniques: A review.** Talanta 69 (2006) 16–24
- [22] V.A. Lemos, W. N. L. Santos, J.S. Santos, M.B. Carvalho, **On-line preconcentration system using a minicolumn of polyurethane foam loaded with Me-BTABr for zinc determination by flame atomic absorption spectrometry.** Anal.Chim. Acta 481 (2003) 283-290.
- [23] A.D.Q. Ferreira, **O impacto do cromo nos sistemas biológicos.** Química Nova 25 (2002) 572-578.
- [24] M.C. Golonka, **Toxic and mutagenic effects of chromium(VI). A Review.** Polyhedron 15 (1995) 3667-3689.
- [25] M. Sperling, S. Xu, B. Welz, **Determination of chromium(III) and chromium(VI) in water using flow injection on-line preconcentration with selective adsorption on alumina and flame atomic absorption spectrometric detection.** Anal. Chem. 64 (1992) 3101-3108.
- [26] CONAMA - <http://www.mma.gov.br/port/conama/res/res05/res35705.pdf>, acessado em maio de 2006.

- [27] J.F. van Staden., R.I. Stefan, **Chemical speciation by sequential injection analysis: an overview** Talanta 64 (2004) 1109–1113.
- [28] A.K. Das, M. de la Guardia, M.L. Cervera, **Literature survey of on-line elemental speciation in aqueous solutions.** Talanta 55, 1-28, 2001.
- [29] K. Pyrzynska, **Speciation of selenium compounds.** Analytical Sciences 14 (1998) 479-483.
- [30] F. Shemirani, S.D. Abkenar, A.A. Mirroshandel, M.S. Niasari, R.R. Kozania, **Preconcentration and speciation of chromium in water samples by atomic absorption spectrometry after cloud-point extraction.** Analytical Sciences, 19 (2003) 1453-1456.
- [31] D.M. Sánchez, R. Martín, R. Morante, J. Marín, M.L. Munuera **Preconcentration speciation method for mercury compounds in water samples using solid phase extraction followed by reversed phase high performance liquid chromatography.** Talanta 52 (2000) 671–679.
- [32] M. Burguera, J.L.Burguera, **Analytical methodology for speciation of arsenic in environmental and biological samples.** Talanta 44 (I 997) 1581- 1604.
- [33] T.P. Rao, S. Karthikeyan, B. Vijayalekshmy, C.S.P. Iyer, **Speciative determination of chromium(III) and chromium(VI) using flow injection on-line preconcentration and flame atomic absorption spectrometric detection.** Anal. Chim. Acta 369, 69-77, 1998.
- [34] H.F. Maltez, E. Carasek. **Chromium speciation and preconcentration using zirconium(IV) and zirconium(IV) phosphate chemically immobilized onto silica gel surface using a flow system and F AAS** Talanta 65 (2005) 537–542.
- [35] J. Posta, A. Alimonti, F. Petrucci, S. Caroli, **On-line separation and preconcentration of chromium species in seawater** Anal. Chim. Acta 325, 185-193, 1996.

- [36] J.E.T. Andersen, **Introduction of hydrogen peroxide as an oxidant in flow injection analysis: speciation of Cr(III) and Cr(VI)**. Anal. Chim. Acta 361, 125-131, 1998.
- [37] M.P. Kallio, P.K.G. Manninen, **Speciation of chromium waste waters by coupled column ion chromatography – inductively coupled plasma mass spectrometry**. J. Chromatog. A. 750, 89-95, 1996.
- [38] T. Sumida, T. Ikenoue, K. Hamada, A. Sabarudin, M. Oshima, S. Motomizu, **On-line preconcentration using dual mini-columns for the speciation of chromium(III) and chromium(VI) and its application to water samples as studied by inductively coupled plasma-atomic emission spectrometry**. Talanta 68 (2005) 388–393.
- [39] N.K. Djane, K. Ndung'u, C. Johnsson, H. Sartz, T. Tornstrom, L. Mathiasson, **Chromium speciation in natural waters using serially connected supported liquid membranes**. Talanta 48 (1999) 1121.
- [40] H. Cui, R. He, J. Wang, **A simple and sensitive chromium speciation procedure by hyphenating flow injection on-line preconcentration with catalytic spectrophotometry**. Talanta 70 (2006) 139–145.
- [41] P.G. Krishna, J.M. Gladis, U. Rambabu, T.P. Rao, G.R.K. Naidu, **Preconcentrative separation of chromium(VI) species from chromium(III) by coprecipitation of its ethyl xanthate complex onto naphthalene**. Talanta 63 (2004) 541–546.
- [42] D. Pozebon, V. L. Dressler, J.A.G. Neto, A.J. Curtius, **Determination of arsenic(III) and arsenic(V) by electrothermal atomic absorption spectrometry after complexation and sorption on a C-18 bonded silica column**. Talanta 45 (1998) 1167–1175.
- [43] J. Zheng, M. Ohata, N. Furuta **Antimony Speciation in Environmental Samples by Using High-Performance Liquid Chromatography Coupled to Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry**. Analytical Sciences 16 (2000) 75-80.

- [44] Y.K. Agrawal ., K.R. Sharma, **Speciation, liquid–liquid extraction, sequential separation, preconcentration, transport and ICP-AES determination of Cr(III), Mo(VI) and W(VI) with calix-crown hydroxamic acid in high purity grade materials and environmental samples.** Talanta 67 (2005) 112–120.
- [45] A.B. Tabrizi, **Development of a cloud point extraction-spectrofluorimetric method for trace copper(II) determination in water samples and parenteral solutions.** Journal of Hazardous Materials B139 (2007) 260–264.
- [46] C.D. Stalikas, **Micelle-mediated extraction as a tool for separation and preconcentration in metal analysis.** Trends in analytical chemistry 21 (2002) 343-355.
- [47] W. Wardencki, J. Curyo, J. Namiećnik, **Trends in solventless sample preparation techniques for environmental analysis,** J. Biochem. Biophys. Methods (2006) no prelo.
- [48] W. Liu, H. K. Lee, **Continuous-Flow microextraction exceeding1000-Fold concentration of dilute analytes** Anal. Chem. 72 (2000) 4462-4467.
- [49] E. Carasek, J.W. Tonjes, M. Scharf, **A new method of microvolume back-extraction procedure for enrichment of Pb and Cd and determination by flame atomic absorption spectrometry,** Talanta 56 (2002) 185–191.
- [50] E. Zhao, L. Han, S. Jiang, Q. Wang, Z. Zhou. **Application of a single-drop microextraction for the analysis of organophosphorus pesticides in juice,** Journal of Chromatography A, 1114 (2006) 269–273.
- [51] S. Berijani, Y. Assadi, M. Anbia, M. M. Hosseini, E. Aghaee, **Dispersive liquid–liquid microextraction combined with gas chromatography-flame photometric detection Very simple, rapid and sensitive method for the determination of organophosphorus pesticides in water.** Journal of Chromatography A, 1123 (2006) 1-9.

- [52] M. Rezaee, Y. Assadi, M. M. Hosseini, E. Aghaee, F. Ahmadi, S. Berijani **Determination of organic compounds in water using dispersive liquid–liquid microextraction**. Journal of Chromatography A, 1116 (2006) 1–9.
- [53] M. A. Jeannot, F. F. C., **Solvent microextraction into a single drop**. Anal. Chem. 68 (1996) 2236 – 2240.
- [54] L. Xu, C. Basheer, H.K. Lee, **Developments in single-drop microextraction**, Journal of Chromatography A, xxx (2006) no prelo.
- [55] M. Chamsaz, M.H. Arbad-Zavar, S. Nazari, **Determination of arsenic by electrothermal atomic absorption spectrometry using headspace liquid phase microextraction after *in situ* hydride generation**. J. Anal. Atom. Spectrom. 18 (2003) 1279.
- [56] L. B. Xia, B. Hu, Z.C. Jiang, Y.L. Wu, Y. Liang, **Single-Drop microextraction combined with low-temperature electrothermal vaporization ICP-MS for the determination of trace Be, Co, Pd and Cd in biological samples**, Anal. Chem. 76 (2004) 2910-2915.
- [57] L. Li, B. Hu, L.B. Xia, Z.C. Jiang, **Determination of trace Cd and Pb in environmental and biological samples by ETV-ICP-MS after single-drop microextraction**, Talanta 70 (2006) 468–473.
- [58] S.Fragueiro, I. Lavilla, C. Bendicho, **Hydride generation-headspace single-drop microextraction-elctrothermal atomic absorption spectrometry method for determination of selenium in waters after photoassisted preduction**. Talanta 68 (2006) 1096-1101.
- [59] S. Gil, S.Fragueiro, I. Lavilla, C. Bendicho, **Determination of methylmercury by elctrothermal atomic absorption spectrometry using headspace single-drop microextraction with *in situ* hydride generation**, Spectrochim. Acta Part B 60 (2005) 145-150.
- [60] S.Fragueiro, I. Lavilla, C. Bendicho, **Headspace sequestration of arsine onto a Pd(II)-containing aquosos drop as a preconcentration method for**

- electrothermal atomic absorption spectrometry**, Spectrochim. Acta Part B 59 (2004) 851-855.
- [61] F. M. Lanças **Extração em fase sólida**. Editora RiMa, São Carlos, Brasil 2004.
- [62] V. Camel **Solid phase extraction of trace elements - Review** Spectrochimica Acta Part B 58 (2003) 1177–1233.
- [63] I. L. de Alcântara, P. S. Roldan, M. A. L. Margiontea, G. R. Castro, C. C. F. Padilha, A.O. Florentino, P.M.Padilha, **Determination of Cu, Ni and Pb in Aqueous Medium by FAAS After Pre-Concentration on 2-Aminothiazole Modified Silica Gel**. J. Braz. Chem. Soc.15 (2004) 366-371.
- [64] M. Tuzen, M. Soylak, L. Elci, **Multi-element pre-concentration of heavy metal ions by solid phase extraction on Chromosorb 108**. Anal. Chim. Acta 548 (2005) 101–108.
- [65] E. L. da Silva, D. Budziak, E. Carasek, **Determination of trace metals in fuel alcohol by F AAS using Nb₂O₅-SiO₂ as sorbent material in a flow injection online preconcentration system**. Anal. Lett. 37 (2004)
- [66] R.L. Dutra, H.F. Maltez, E. Carasek, **Development of an on-line preconcentration system for zinc determination in biological samples**. Talanta 69 (2006) 488–493.
- [67] B. S. Garg, R.K. Sharma, J.S. Bist, N. Bhojak, S. Mittal, **Separation and preconcentration of metal ions and their estimation in vitamin, steel and milk samples using o-vanillin-immobilized silica gel**. Talanta 48 (1999) 49-55.
- [68] K. Pyrzynńska, M. Cheregi, **Lead determination with on-line enrichment system**. Wat. Res. 34 (2000) 4215-4219.
- [69] S. Tokalioglu, S. Kartal, L. Elci **Speciation and determination of heavy metals in lake waters by atomic absorption spectrometry after sorption on amberlite XAD-16 Resin**, Analytical Sciences 16 (2000) 1169-1174.

- [70] M.F. Garcia, R.P. Garcia, N.B. Garcia, A. Sanz-Medel, **On-line preconcentration of inorganic mercury and methylmercury in sea-water by sorbent-extraction and total mercury determination by cold vapour atomic absorption spectrometry**, *Talanta* 41 (1994) 1833.
- [71] S.N. Willie, H. Tekgul, R.E. Sturgeon. **Immobilization of 8-hydroxyquinoline onto silicone tubing for the determination of trace elements in seawater using flow injection ICP-MS**. *Talanta* 47 (1998) 439–445.
- [72] V. L. Dressler, D. Pozebon, A. J. Curtius **Determination of heavy metals by inductively coupled plasma mass spectrometry after on-line separation and preconcentration**. *Spectrochim. Acta Part B* (1998) 1527–1539.
- [73] V. L. Dressler, D. Pozebon , A.J. Curtius **Determination of Ag, Te, U and Au in waters and in biological samples by FI-ICP-MS following on-line preconcentration**. *Anal. Chim. Acta* 438 (2001) 235–244.
- [74] A. Tunceli, A.R. Turker, **Speciation of Cr(III) and Cr(VI) in water after preconcentration of its 1,5-diphenylcarbazone complex on amberlite XAD-16 resin and determination by FAAS**. *Talanta* 57 (2002) 1199.
- [75] Y. Cai, G. Jiang, J. Liu, **Preconcentration of cobalt with 8-hydroxyquinoline and gas chromatographic stationary phase Chromosorb 105 and its determination by graphite furnace atomic absorption spectrometry**, *Talanta* 57 (2002) 1173.
- [76] S.P. Quinaia, J.B.B. da Silva, M.C.E. Rollemberg, A.J. Curtius, **Preconcentration of lead complexed with O,O-diethyl- dithiophosphate by column solid-phase extraction using different sorbents in a flow injection system coupled to a flame atomic absorption spectrometer**, *Talanta* 54 (2001) 687.
- [77] S. Lin, C. Zheng, G. Yun, **Determination of palladium by flame atomic absorption spectrometry combined online with flow injection preconcentration using a microcolumn packed with activated carbon fibre**, *Talanta* 42 (1995) 921.

- [78] Q. Pu, Q. Sun, Z. Hu, Z. Su, **Application of 2-mercaptobenzothiazole-modified silica gel to on-line preconcentration and separation of silver for its atomic absorption spectrometric determination.** Analyst 123 (1998) 239-243.
- [79] A.G. Cox, C.W. McLeod, **Preconcentration and determination of trace chromium(III) by flow injection inductively-coupled plasma atomic emission spectrometry,** Anal. Chim. Acta 179 (1986) 487.
- [80] E. Tonhi, K.E. Collins, I.C.S.F. Jardim, C.H. Collins, **Fases estacionárias para cromatografia líquida de alta eficiência em fase reversa (CLAE-FR) baseadas em superfícies de óxidos inorgânicos funcionalizados.** Química Nova, 25 (2002) 616-623.
- [81] Gushikem, Y.; Rosatto, S.S.; **Metal oxide thin films grafted on silica gel surfaces: recent advances on the analytical application of these materials.** J. Braz. Chem. Soc. 12 (2001) 695-705.
- [82] A.M. Lazarin, C.A. Borgo, Y. Gushikem, **Filme fino de ZrO₂ enxertado sobre a superfície de sílica gel: preparação e propriedade de adsorção de Cr (VI).** Química Nova 25 (2002) 499-501.
- [83] H.F. Maltez, L.F.C. Melo, S.C.N. Queiros, I.C.S.F. JARDIM, A.J. Curtius, E. Carasek, **A comparative study between homemade C18 and commercial C18 sorbents for preconcentration of lead by minicolumn solid phase extraction.** Microchimica Acta 144 (2003) 17-22.
- [84] J.W. McLaren, A.P. Mykytiuk, S.N. Willie, S.S. Berman, **Determination of trace metals in seawater by inductively coupled plasma mass spectrometry with preconcentration on silica-immobilized 8-hydroxyquinoline,** Anal. Chem. 57 (1985) 2907.
- [85] O. Zaporzhets, O. Gawer, V. Sukhan, **Determination of Fe(II), Cu(II) and Ag(I) by using silica gel loaded with 1,10-phenanthroline.** Talanta 46 (1998) 1387-1394.

- [86] A. Goswami, K. Singh, **1,8-dihidroxyanthraquinone anchored to silica gel:synthesis and application as solid phase extractant for lead(II), zinc(II) and cadmium(II) prior to their determination by flame atomic absorption spectrometry.** Talanta 58 (2002) 669-678.
- [87] Peixoto, C.R.M.; Gushikem, Y.; Baccan, N.; **Selective spectrophotometric determination of trace amounts of chromium(VI) using a flow injection system with a microcolumn of zirconium(IV) oxide modified silica gel.** Analyst 117 (1992) 1029-1032.
- [88] Nagata, N.; Kubota, L.T.; Buen, M.I.M.S.; Zamora, P.G.P.; **Adsorption parameters of Cd(II), Pb(II), and Hg(II) on zirconium(IV) phosphate chemically grafted onto silica gel surface.** J. of Colloid and interface Science 200 (1998) 121-125.
- [89] Kubota, L.T.; Gushikem, Y.; **Adsorption of chromium(VI) by titanium(IV) oxide coated on silica surface.** Analyst 116 (1991) 281-283.
- [90] Denofre, S.; Gushikem, Y.; Davanzo, C.U.; **Adsorption property of Nb(V) oxide grafted on silica gel surface.** Eur. J. Solid State Inorg. Chem. 28 (1991) 1295-1305.
- [91] Gushikem, Y.; Rosatto, S.S.; **Metal oxide thin films grafted on silica gel surfaces: recent advances on the analytical application of these materials.** J. Braz. Chem. Soc. 12 (2001) 695-705.
- [92] J. Posta, A. Alimonti, F. Petrucci, S. Caroli, **On-line separation and preconcentration of chromium species in seawater** Anal. Chim. Acta 325 (1996) 185-193.
- [93] M.B. Fritzen, **Adsorção de Cr(VI) na interface água-minerais sedimentários. Efeito das condições de reação e modelo de adsorção.** Dissertação de Mestrado em Química, Programa de Pós-graduação em Química – UFSC 2002.
- [94] S. Denofre, **Propriedades do óxido de nióbio(V) enxertado sobre a superfície da sílica gel.** Dissertação de Mestrado em Química - UNICAMP 1991.

- [95] E.L. da Silva, **Desenvolvimento de metodologias analíticas para determinação de metais traço em água e em álcool combustível por FI-FAAS, com SPE usando sílica modificada com óxido de nióbio ou 3(1-imidazolil)propil.** Tese de Doutorado em Química, Programa de Pós-graduação em Química - UFSC 2004.
- [96] Z. Fang, S. Xu, S. Zhang, **Fundamental and practical considerations in the design of on-line column preconcentration for flow-injection atomic spectrometric systems.** Anal. Chim. Acta, 200 (1987) 35-49.
- [97] Z. Fang, **Flow injection Separation and preconcentration.** Ed. VHC Nova York, EUA, 1993.
- [98] B.F. Reis, M.F. Giné, E.A.M. Kronka, **A análise química por injeção em fluxo contínuo.** Quím. Nova 12 (1989) 82-91.
- [99] J. Ruzicka, E.H. Hansen, **Flow injection analysis.** 2^a Edição, Ed. Willey, Nova York, EUA, 1988.
- [100] J.L. Burguera, **Flow injection atomic spectroscopy.** Ed. Marcel Dekker, Nova York, EUA, 1989.
- [101] C.F. Poole, A.D. Gunatilleka, R. Sethuraman, **Contributions of theory to method development in solid-phase extraction,** J. Chromatogr. A 885 (2000) 17.
- [102] Chemkeys: O seu site de química- UNICAMP
http://www.chemkeys.com/bra/md/peeo_6/mdoeq_1/metuni_5/metuni_5.htm
acessado em outubro de 2006.
- [103] W.N.L. do Santos, C.M.C. Santos, S.L.C. Ferreira, **Aplication of three-variables Doehlert matrix for optimization of na on-line pre-concentration system for zinc determination in natural water samples by flame atomic absorption spectrometry.** Microchem. J. 75 (2003) 211-221.
- [104] P.W. Araujo, R.G. Brereton, **Experimental design I. Screening.** Trends in Analytical Chemistry, 15 (1996) 26-31.

- [105] M. Zougagh, P.C. Rudner, A.G. de Torres, J.M.C. Pavón, **Application of Doehlert matrix and factorial designs in optimization of experimental variables associated with preconcentration and determination of zinc by inductively coupled plasma optical emission spectrometry.** J. Anal. At. Spectrom. 15 (2000) 1589-1594.
- [106] S.L.C. Ferreira, H.C. dos Santos, M.S. Fernandes, M.S. de Carvalho, **Application of Doehlert matrix and factorial designs in optimization of experimental variables associated with preconcentration and determination of molybdenum in sea-water by inductively coupled plasma optical emission spectrometry** J. Anal. At. Spectrom. 17 (2002) 115-120.
- [107] R.L. Dutra, **Desenvolvimento de metodologias analíticas para determinação de zinco(II) em plasma, eritrócito e urina de 24 horas por espectrometria de absorção atômica em chama e posterior correlação com atividade física e dislipidemia usando análise quimiométrica.** Tese de Doutorado em Química, Programa de Pós-graduação em Química - UFSC 2005.
- [108] S.L.C. Ferreira, W. N.L. dos Santos, C. M. Quintella, B.B. Neto, J. M. Bosque-Sendra **Doehlert matrix: a chemometric tool for analytical chemistry-review.** Talanta 63 (2004) 1061-1067.
- [109] B. Barros Neto, I.S. Scarmínio, R.E. Bruns, **Como Fazer Experimentos - Pesquisa e Desenvolvimento na Ciência e na Indústria**, 2ª Edição, Ed. Unicamp, Campina, Brasil 2002.
- [110] S.L.C. Ferreira, W.N.L. dos Santos, M.A. Bezerra, V.A. Lemos, J.M. Bosque-Sendra, **Use of factorial design and Doehlert matrix for multivariate optimisation of an on-line preconcentration system for lead determination by flame atomic absorption spectrometry**, Anal. Bioanal. Chem. 375 (2003) 443-449.
- [111] T. Lundstedt, E. Seifert, L. Abramo, B. Thelin, A. Nystrom, J. Pettersen, R. Bergman, **Experimental Design and Optimization.** Chemon. Intell. Lab. Syst. 42 (1998) 3-40.

- [112] S.N. Deming, S.L. Morgan, **Chemometrics: A textbook**. Ed. Elsevier Scientific Publishing Company, Nova York, EUA 1988.
- [113] R.G. Arambari, E. Millán, **Optimization of tin determination in aqua regia-HF extracts from sediments by eletrothermal atomic absorption spectrometry using experimental design**. The Analyst 125 (2000) 2084-2088.
- [114] A.M.G. Campaña, L.C. Rodríguez, A.L. Gonzáles, F.A. Barrero, M.R. Ceba, **Sequential response surface methodology for multioptimization in analytical with three-variable Doehlert designs**. Anal. Chim. Acta 348 (1997) 237-246.
- [115] D.H. Doehlert, **Uniform Shell Designs**. Appl. Statist. 19 (1970) 231-239.
- [116] Clesceril, S.; Grenberg, A. E.; Eaton, D. A.; **Standard methods for examination of water and wastewater**. 20^a edição, United Book Prees, Inc. Baltimore, EUA, 1998.

Anexo I

Publicações

[1] MALTEZ, H.F.; MELO, L.F.C.; QUEIROZ, S.C.N.; JARDIM, I.C.S. F; CURTIUS, A.J.;CARASEK, E. **A comparative study between homemade C18 and commercial C18 sorbents for preconcentration of lead by minicolumn solid phase extraction.** Microchimica Acta, 144 (2003) 17-22 .

[2] MALTEZ, H. F.; CARASEK, E. **Chromium speciation and preconcentration using Zirconium (IV) and Zirconium (IV) Phosphate Chemically Immobilized onto Silica Gel using a flow system and F AAS.** Talanta 65 (2005) 537-542, 2005.

[3] MALTEZ, H.F.; DUTRA, R.L.; CARASEK, E. **Development of an on-line preconcentration system for zinc determination in biological samples.** Talanta 69 (2005) 488-493.

[4] MALTEZ, H. F.; VIEIRA, M.A.; RIBEIRO, A.S.; CURTIUS, A.J.; CARASEK, E. **Simultaneous on line preconcentration and determination of trace metals in environmental samples by flow injection combined with inductively coupled plasma mass spectrometry using silica gel modified with niobium(V) oxide.** Talanta, aceito.

[5] MALTEZ, H.F.; ROUX, K.C.P., CARLETTO, J.S. MARTENDAL, E.; CARASEK, E. **Determination of trace lead in environmental samples by on-line column preconcentration flame atomic absorption spectrometry using silica gel chemically modified with niobium (V) oxide.** Analytical Sciences,

aceito.

[6] MALTEZ, H. F.; BORGES, D.L.G.; WELZ, B.; CURTIUS, A.J.; CARASEK, E. **Single-drop microextraction with O,O-diethyl dithiophosphate for the determination of lead by graphite furnace atomic absorption spectrometry.** Talanta, submetido

[7] MALTEZ, H.F.; MARTENDAL, E.; CARASEK, E. **Use of factorial design and Doehlert matrix for optimization of a flow system for speciation of chromium by flame atomic absorption spectrometry.** Em preparação.

[8] MALTEZ, H.F.; CARLETTO, J.S.; ROUX, K.C.P.; MARTENDAL, E.; MARTINS, A.O.; CARASEK, E. **Application of Sulphoxine immobilized onto chitosan resin for preconcentration and determination of zinc (II) by flame atomic absorption spectrometry.** Em preparação.

